VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE EIGNUNG VERSCHIEDENER BIOLOGISCHER INDIKATOREN ZUR ÜBERPRÜFUNG DES STERILISATIONSEFFEKTES VON AUTOKLAVEN

RAINER KINDT

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555607_0066

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE EIGNUNG VERSCHIEDENER BIOLOGISCHER INDIKATOREN ZUR ÜBERPRÜFUNG DES STERILISATIONSEFFEKTES VON AUTOKLAVEN

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,

den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

RAINER KINDT

aus Rostock

Mainz 1977

Fachbereichsdekan:	Professor Dr. P. Klein
Referent:	Professor Dr. J. Borneff
Korreferent:	Professor Dr. F. Selenka
Tag der mündlichen Prüfung	24. November 1976

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gesamtherstellung

DITTERS BÜRODIENST
6501 HEIDESHEIM/RHEIN
AM KAPELLCHEN 1 · RUF 06132/5711

INHALTSVERZEICHNIS

Vorwort

I. Einleitung

1. Notwendigkeit der Überprüfung des Sterilisationseffektes

2. Möglichkeiten der Überprüfung des Sterilisationseffektes

3. Eigenschaften und Problematik der biologischen Indikatoren

II. Problemstellung

III. Beschreibung der Indikatoren

IV. Eigene Experimente

1.0. Ausgangskeimzahlen der verschiedenen biologischen Indikatoren

1.1. Material und Methodik

1.2. Ergebnisse

2.0. Keimzahlreduktion beim Autoklavieren

2.1. Material und Methodik

2.2. Ergebnisse

3.0. Keimzahlreduktion bei trockener Hitze

3.1. Material und Methodik

3.2. Ergebnisse

4.0. Der Einfluß unterschiedlicher Verpackungen

4.1. Material und Methodik

4.2. Ergebnisse

V. Diskussion

VI. Empfehlungen für die praktische Anwendung

VII. Zusammenfassung

VIII. Literaturverzeichnis

VORWORT

"Sterilisieren" ist in der 7. Auflage des Deutschen Arzneibuches (20) definiert als Maßnahme, durch die ein Gegenstand von allen vermehrungsfähigen Mikroorganismen freigemacht wird. Die Keime werden abgetötet und verlieren so ihre Teilungsfähigkeit; es ist jedoch nicht notwendig, sie von bzw. aus dem sterilisierten Material zu entfernen.

Verschiedene Methoden finden Anwendung, um einen solchen Sterilisationseffekt zu erzielen, zum Beispiel die traditionellen thermischen Verfahren mit gespanntem, gesättigtem Wasserdampf (Autoklavieren) und mit Heißluft, sowie in neuerer Zeit die Äthylenoxid- und Strahlensterilisatoren. Die weiteste Verbreitung im medizinischen Bereich haben allerdings nach wie vor die thermischen Sterilisationsverfahren.

Mikroorganismen zeigen eine unterschiedlich starke Empfindlichkeit gegenüber thermischen Einflüssen. Daher wurden sie von KONRICH (31) in vier Resistenzstufen eingeteilt: Die I. Stufe umfaßt alle vegetativen Keime, Rickettsien, Viren, Pilze und Pilzsporen, die II. Resistenzstufe beinhaltet die Milzbrandsporen, die III. umfaßt die mesophilen nativen Erdsporen und pathogene, anaerobe Sporenbildner. Die höchst-thermoresistenten, thermophilen Bakterien der Resistenzstufe IV sind apathogen und für den medizinischen Bereich praktisch ohne Bedeutung; für ihre Abtötung sind nach DOBBERSTEIN (22) im Autoklaven bei 134°C sechs Stunden notwendig. Übereinkunftsgemäß müssen bei einer thermischen Sterilisation für den medizinischen Bereich nur die Keime der Resistenzstufen I bis III erfaßt werden.

I. EINLEITUNG

1. NOTWENDIGKEIT DER ÜBERPRÜFUNG DES STERILISATIONSEFFEKTES

Untersuchungen verschiedener Autoren (7, 54) haben gezeigt, daß zwischen 17 und 30% der Autoklaven bei fachmännischen Überprüfungen keinen Sterilisationseffekt erzielen. Die Fehlerquote ist bei Heißluftsterilisatoren sogar doppelt so hoch. Dieser Prozentsatz veranschaulicht das hohe Risiko, unter welchem derzeit im klinischen Bereich gearbeitet wird.

Zwei Ursachen sind hauptsächlich dafür verantwortlich; in erster Linie eine fehlerhafte Bedienung der Sterilisatoren und andererseits Mängel an den Geräten selbst. Darüber hinaus sind weitere Faktoren, wie z.B. falsche Verpackung des Sterilisiergutes, maßgebend (6).

Voraussetzung für die Beseitigung solcher Fehler ist eine zuverlässige Information über den Sterilisationseffekt. Es bedarf also einer Prüfung, und zwar

bei Inbetriebnahme der Geräte,
nach jeder Reparatur,
falls vom Bedienungspersonal Fehler festgestellt werden und
bei jeder neuen Beschickungsart.

Weiterhin ist zwischen diesen vom Fachmann durchzuführenden Testungen eine laufende Selbstkontrolle durch das Bedienungspersonal dringend zu empfehlen (56).

2. MÖGLICHKEITEN DER ÜBERPRÜFUNG DES STERILISATIONSEFFEKTES

Für die Sterilisation im Autoklaven sind unter der Voraussetzung der Dampfsättigung und eines maximalen Restluftgehalts von 10% Temperatur bzw. Druck und Einwirkungszeit die entscheidenden Parameter.
Die experimentell festgestellten Abtötungszeiten für Keime der Resistenzstufe III betragen beim Sterilisieren unter optimalen Bedingungen bei 1 atü (bzw. einer Temperatur von 121° C) 8 Minuten, bei 2 atü (bzw. 134° C) 2 Minuten (56).
In der Praxis reichen diese Werte jedoch nicht aus, weil je nach Art des Sterilisationsgutes bzw. seinem Volumen mit erheblichen Verzögerungen in der Aufwärmung im Vergleich zur Thermometeranzeige zu rechnen ist (= sog. Hinkezeiten). Als Richtwerte für die Abtötungszeiten gelten daher mit Einrechnung eines Sicherheitszuschlages bei einem Druck von 1 atü 30 Minuten und bei 2 atü 10 Minuten (4).

Derzeit werden drei Gruppen von Testverfahren verwendet, und zwar physikalische Methoden, chemische Indikatoren und biologische Proben.

Als physikalische Meßmethoden kommen die Temperatur-, Druck- und Zeitmessung in Betracht. Der Druck und die Temperatur, welche in der Kammer herrschen, werden bei den meisten Autoklaventypen durch fest eingebaute Instrumente nach außen angezeigt, allerdings geben diese Daten noch keinen Aufschluß über die Temperaturverhältnisse innerhalb des Sterilisiergutes.

Das Meßgerät muß folglich beweglich und relativ klein sein, um es im Innern des Sterilisiergutes unterbringen zu können. Diese Voraussetzung erfüllt zwar das Maximalthermometer, doch kann damit nicht der Zeitpunkt des Erreichens der gewünschten Temperatur und die Zeitdauer der Einhaltung dieser Temperatur bestimmt werden.
Experimentell läßt sich immerhin durch zeitlich abgestufte Messungen unter sonst gleichen Bedingungen eine relativ genaue Kontrolle des Temperaturanstiegs mit dem Maximalthermometer erzielen. Für die praktische Anwendung ist es jedoch nur als zusätzliche Möglichkeit zur Kontrolle des Erreichens einer bestimmten Temperatur zu empfehlen.

Eine exakte Temperaturverlaufsbestimmung im Innern des Sterilisiergutes ist dagegen mit elektrischen Thermoelementen möglich. Dabei werden an den ungünstigen Stellen im Sterilisiergut Thermosensoren exponiert, die über elektrische Leitungen mit einem sich außerhalb der Kammer befindenden Registriergerät verbunden sind. Diese Methode ist allerdings für den routinemäßigen Einsatz einerseits wegen der hohen Anschaffungskosten, des aufwendigen Transportes sowie der Anfälligkeit des Gerätes und zum andern wegen der schwierigen Installierung zu aufwendig. Die Temperaturverlaufsbestimmung mittels der thermoelektrischen Messung hat daher für die Routineuntersuchungen keine praktische Bedeutung, sondern findet hauptsächlich Anwendung bei der Entwicklung und Typenprüfung neuer Geräte (27).

Eine weitere Möglichkeit zur physikalischen Bestimmung der erreichten Temperatur besteht darin, Substanzen mit definiertem Schmelzpunkt so zu präparieren, daß das Erreichen der Schmelztemperatur palpatorisch oder visuell festgestellt werden kann. Mit modifizierten Schmelzkörpern (9, 46) sind sogar informative Zeitmessungen möglich; dabei muß der geschmolzene Stoff durch ein Kapillarrohr laufen, und man kann aus der abgelaufenen Menge grob auf die Zeit der Temperatureinhaltung schließen.

Analog zu der Temperatur-Zeit-Kontrolle mittels der modifizierten Schmelzkörper läßt sich auch durch die Menge der Verdampfung einer vorgegebenen Flüssigkeitsmenge mit definier-

tem Siedepunkt eine Aussage über die Zeitdauer der Einhaltung einer bestimmten Temperatur treffen, siehe z.B. bei STRUPPE (52).
Diese Methoden sind wegen der hohen Schmelz- und Siedepunkte der in Betracht kommenden Substanzen hauptsächlich für Heißluftsterilisatoren geeignet. Auch dieses Verfahren hat sich bis jetzt nicht durchgesetzt, da es noch gewisse Mängel aufweist (z.B. ist ein genaues Einhalten der Siedetemperatur erforderlich).

Die Gilbung farbloser organischer Stoffe (z.B. Zellstoff, Papier) zeigt die Einwirkung von Hitze an. Durch Präparation eines Filterpapiers mit Zuckerlösung und Messung der Gilbung durch Bestimmung des Remissionsgrades bewiesen MACHMERTH, HORN u. BRAUN (37), daß die Gilbung eine ähnliche Abhängigkeit von Temperatur und Zeit aufweist wie die Abtötung der Sporenerde in Heißluft. Die Versuchsresultate ergaben, daß die entwickelte Methode zur Überprüfung von Heißluftsterilisatoren geeignet ist.

Die chemischen Indikatoren bestehen aus thermolabilen Substanzen, die meistens auf Papierträger aufgebracht sind. Bei Wärmeeinwirkung erfolgt eine wasserabhängige Reaktion, die einen Umschlag der Farbe bewirkt. Auf dem Markt befindet sich eine Reihe solcher Indikatoren, die in verschiedenen Arbeiten auf ihre Eignung untersucht wurden (8, 29, 42, 43, 50, 51, 52, 53, 55). Dabei konnten erhebliche Qualitätsunterschiede festgestellt werden. Ein wichtiges Resultat war z.B., daß die Umschlagkurven der chemischen Indikatoren im halblogarithmischen Koordinatensystem flacher als die Bakterienabtötungskurven verlaufen. Der Q_{10}-Wert, der den Faktor der Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit bei Temperaturänderung um 10° C angibt, liegt bei den chemischen Reaktionen zwischen 2 und 3, während er für die Abtötung von Mikroorganismen etwa 10 beträgt. Der Farbumschlag der chemischen Indikatoren erfolgt demnach bei hohen Temperaturen später und bei niedrigen Temperaturen früher als die Abtötung der Keime. Nur in einem begrenzten Temperaturbereich, der aber die wichtigen Werte 121° C und 134° C einschließt, sind die Umschlags- und Abtötungszeiten etwa gleich. Die Einhaltung der Temperatur muß deshalb zusätzlich kontrolliert werden.

Weiterhin zeigen nicht alle chemischen Indikatoren die Anwesenheit von Wasserdampf zuverlässig an, und der Farbumschlag ist nicht immer eindeutig abzulesen. Bei unsachgemäßer Lagerung (z.B. Einwirkung von Feuchtigkeit) werden die Präparate schnell unbrauchbar. Der entscheidende Vorteil ist aber darin zu sehen, daß das Ablesen des Farbumschlages direkt nach dem Sterilisieren erfolgen kann. Insgesamt läßt sich urteilen, daß durch geeig-

nete chemische Indikatoren bei Kenntnis der Fehlermöglichkeiten und des optimalen Temperaturbereichs eine Kontrolle der für die Sterilisation nötigen physikalischen Bedingungen durchführbar ist.

Beweisend für die Sterilität, d.h. die Abtötung von Bakterien der Resistenzstufe III, sind letztlich nur biologische Proben (45), da diese den Gesamteffekt der Sterilisation anzeigen. Man unterscheidet zwei mikrobiologische Methoden zur Prüfung des Sterilisationseffektes, einmal die Sterilitätskontrolle und zum anderen die Indikatorprüfung.
Die Sterilitätskontrolle, also die direkte mikrobiologische Untersuchung des sterilisierten Gutes auf Keimfreiheit, ist mit großer Unsicherheit behaftet, denn der Kontaminationsgrad und die Thermoresistenz der Keime bleiben dabei unberücksichtigt. Wird auf diese Weise Keimfreiheit nachgewiesen, so ist im Grunde nur festgestellt, daß die untersuchten Proben steril sind. Der Effekt des Sterilisationsverfahrens wird damit also nicht getestet.
Bei der Indikatorprüfung werden Testobjekte, die mit Mikroorganismen beladen sind, gemeinsam mit dem Sterilisiergut dem Sterilisationsverfahren ausgesetzt; anschließend prüft man, ob sich noch überlebende Keime nachweisen lassen. Ausgehend von der Überlegung, daß die Keime der Resistenzstufe III abgetötet werden sollen, und native Erdsporen zu den resistentesten dieser Stufe gehören, hat man zur Überprüfung des Sterilisationseffektes Erdpräparationen eingesetzt. Erdproben zeigen abhängig von der Entnahmestelle unterschiedliche Thermoresistenz, was in verschiedenen Untersuchungen auf die Zusammensetzung und den Mineralstoffgehalt der Erden sowie die Keimzahl, die Austrocknung und weitere Variable zurückgeführt wurde (24, 33, 47, 48). Daher wurde nach Möglichkeiten für eine Standardisierung gesucht. Ein vorläufiges Ergebnis dieser Bemühungen ist die Präparationsvorschrift und Resistenzprüfung der Sporenerde nach DIN 58947 aus dem Jahre 1969 (21). Nach diesen Empfehlungen muß die Erde getrocknet, gesiebt und doppelt in Filterpapier verpackt werden. Nach fünfminütigem Einwirken von Wasserdampf mit einer Temperatur von 120° C $\pm$ 1° C soll etwa die Hälfte, aber mindestens ein Drittel der eingesetzten Erdproben Wachstum aufweisen.

Durch die Art der Nährmedien (Bouillon und Thioglykolat) und die Bebrütungstemperatur von 37° C ist auch festgelegt, daß die höchstthermophilen Mikroorganismen der Resistenzstufe IV nicht nachgewiesen werden. Die Überprüfung des Sterilisationseffektes mittels Sporenerdepäckchen erfordert in jedem Fall die Hilfe eines mikrobiologischen Laboratoriums mit geschultem Personal.

In den letzten Jahren werden anstelle der Sporenerde auch Reinkulturen eingesetzt. Diese sogenannten Bioindikatoren sollen so einfach in ihrer Handhabung sein, daß das Klinikpersonal regelmäßig Selbstkontrollen durchführen kann, ohne über besonders eingerichtete Laboratorien verfügen zu müssen.

3. EIGENSCHAFTEN UND PROBLEMATIK DER BIOLOGISCHEN INDIKATOREN

Für die Herstellung von Bioindikatoren zur Überprüfung des Sterilisationseffektes von Autoklaven werden hauptsächlich Sporen von Bacillus stearothermophilus verwendet, da diese gegenüber feuchter Hitze eine hohe Thermoresistenz aufweisen (3, 11, 15, 16, 17). Weiterhin ist diese Spezies apathogen sowie atoxisch und bildet keine Pyrogene (10). Für die Überprüfung der Heißluftsterilisation haben sich Bac. subtilis-Sporen durchgesetzt, da diese die Resistenzskala gegenüber trockener Hitze anführen (49).
Als Sporenträger dienen Papierstreifen, die mit den Sporen imprägniert sind. Diese Sporenstreifen sind in Papiertüten verpackt und werden nach der Mitsterilisation unter Ausschluß einer Kontamination in definierte Nährlösungen gegeben. Eine ungenügende Sterilisation erkennt man nach der Bebrütung an der Trübung des Nährmediums.

In Betracht kommen aber auch Ampullen, welche die Sporen in Suspension enthalten. Solche ampullierten Keime müssen entweder auf eine Nährlösung überimpft werden, um Überlebende nachzuweisen, oder aber die Suspension enthält neben den Sporen auch ein Nährmedium, so daß eine Bebrütung (bei 55-65° C) direkt erfolgen kann. Durch einen Umschlag von Farbindikatoren für die Zuckervergärung kann das Bakterienwachstum zusätzlich nachgewiesen werden.
Die Thermoresistenz und ihre Konstanthaltung während der Lagerungszeit sind von verschiedenen Kriterien abhängig, wie z.B. der Zusammensetzung des Sporulierungsnährbodens (Polypeptide, Kohlenhydrate, Aminosäuren, Elektrolyte, pH) und seiner physikalischen Beschaffenheit (flüssig, fest), der Anzüchtungstemperaturen, der Suspendierung der Sporen und der Art der Keimträger (13, 14, 15, 16, 17, 28, 30, 38). Eine ausführliche Übersicht darüber wurde von COSTIN und GRIGO (18) erarbeitet, ergänzende Kontrollen erfolgten durch HOLSTEIN (26).

Bei geschlossenen Ampullen kommt der Inhalt mit dem Dampf selbst nicht in Berührung, die Abtötung kann in diesem Fall nur durch die Erwärmung des Ampulleninhaltes geschehen; diese Testampullen zeigen demnach nicht das Vorhandensein von Luftinseln an und können folg-

lich nur für die Prüfung der Arzneimittelsterilisation verwendet werden.

Die Sporenstreifen sind meist in einem Papierumschlag verpackt, so daß der Dampf eindringen kann, wodurch das Vorliegen von Luftinseln auch festzustellen ist; der Einsatz ist folglich auch in der Instrumentensterilisation möglich.

Brauchbar ist auch ein geschlossenes System, bei dem die Sporen und die Nährlösung vor der Sterilisation in einem Behälter (z.B. Kunststoffbeutel) allerdings noch voneinander getrennt (z.B. Nährlösung in Glasampulle, Sporen auf Papierstreifen) vorhanden sind. Bei der Sterilisation kann der Dampf durch eine Öffnung in diesen Beutel zu den Sporen gelangen. Zum Anlegen der Subkultur zerstört man durch Manipulation von außen die die Nährlösung enthaltende Ampulle; dadurch gelangt das Nährmedium zu den Sporen, welche dann in dem Behälter bei der entsprechenden Temperatur inkubiert werden.

Die biologischen Indikatoren erfüllen zwar nicht vollständig, aber doch weitgehend die Forderungen, die an ein Nachweisverfahren für die Überprüfung des Sterilisationseffektes gestellt werden. Das Meßsystem ist klein und beeinflußt die Verhältnisse am Meßpunkt nicht, die Einwirkung der physikalischen Faktoren (Temperatur, Zeit, Wasserdampf) kann an einer nahezu punktförmigen Meßstelle als Wirkungsintegral festgestellt werden; weiterhin sind sie einfach in ihrer Handhabung. Das Ergebnis ist allerdings frühestens nach eintägiger, z.T. auch erst nach längerer Bebrütung ablesbar.

II. PROBLEMSTELLUNG

Wie die besorgniserregenden Berichte (7, 54) über Prozentzahlen von nicht funktionierenden Sterilisationsprogrammen zeigen, ist zwischen den fachmännischen, jährlichen Überprüfungen eine zusätzliche Selbstkontrolle durch das Personal in den Krankenhäusern dringend notwendig. Hierfür erscheinen uns prinzipiell biologische Indikatoren geeignet zu sein. Derartige, bereits im Handel erhältliche Indikatoren müssen allerdings bis zum heutigen Tage nicht auf ihre Verwendbarkeit kontrolliert werden. Aus diesem Grunde überprüften wir in einer vergleichenden Untersuchung einen Großteil der auf dem Markt befindlichen Produkte. Dabei wurde der Einfluß der oben erwähnten Kriterien: Temperatur bzw. Druck, Einwirkungszeit und Einfluß des Wasserdampfes erfaßt.

III. BESCHREIBUNG DER INDIKATOREN

Die im folgenden beschriebenen biologischen Indikatoren sind für die Überprüfung von Autoklaven deklariert. Der SPORDI-Indikator ist zusätzlich (laut Herstellerangabe) für die Testung von Heißluft- und Gassterilisatoren geeignet.

ATTEST - Indikator: [1]

In einer Polypropylen-Hülse befindet sich eine Glasphiole, gefüllt mit Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Lösung (CSL) und weiteren (nicht deklarierten) Zusätzen sowie Bromkresolpurpur als Farbindikator und ein mit Sporen von Bac. stearothermophilus kontaminierter Papierstreifen. Die Hülse ist mit einem Plastikdeckel, in dem ein Papierfilter eingelassen ist, verschlossen. Nach Mitsterilisation wird die nährmedienhaltige Glasphiole durch Druck mit den Fingern auf die Kunststoffhülse zerbrochen, so daß die Nährflüssigkeit zu den auf dem Papierstreifen befindlichen Sporen gelangt. Die Indikatoren werden (gegebenenfalls in einem vom gleichen Hersteller gelieferten Inkubator) bei 56° C durch 24 bis 48 Stunden bebrütet. Ein Wachstum der Bakterien und damit eine ungenügende Sterilisation ist am Umschlag des Farbindikators von Violett nach Gelb erkennbar.
Die Überlebenszeit, welche angibt, nach welcher Zeit noch alle Proben auswachsen, wird auf der Verpackung für 121° C (250° F) mit 5 Minuten und die Abtötungszeit, nach der keine der Proben mehr Wachstum aufweisen soll, mit 15 Minuten angegeben. Für 135°C (275° F) betragen die Werte 1 bzw. 3 Minuten.

KILIT - Ampullen: [2]

In einer Glasampulle befinden sich 3 ml CSL mit Zusätzen und einem Farbindikator sowie Bac. stearothermophilus-Sporen in Suspension. Nach Mitsterilisation wird die Ampulle bei 55° bis 65°C durch 24 bis 48 Stunden inkubiert. Eine Trübung des Nährmediums und ein Umschlag des Farbindikators von Violett nach Gelb zeigen Wachstum der Testkeime an. Die Überlebenszeit bei 121° C beträgt laut Beschreibung des Herstellers 5 Minuten und die Abtötungszeit 15 Minuten.

---

1) Hersteller: Minnesota Mining and Manufacturing Company, St. Paul, Minnesota 55101 U.S.A.

2) Hersteller: BBL, Division of Becton, Dickinson and Company, Cockeysville, Maryland 21030 U.S.A.

KILIT - Streifen: [3]

Auf einem mit Nährsubstanz imprägnierten Papierstreifen befinden sich Sporen von Bac. Stearothermophilus. Nach Mitsterilisation werden die Streifen laut Herstelleranweisung direkt aus dem geöffneten Papierumschlag in mit 12 bis 15 ml sterilem Aqua dest. gefüllte Röhrchen gegeben. Das Wasser färbt sich - bedingt durch einen Farbindikator - violett. Nach 24- bis 48-stündiger Inkubation bei 55 bis 65° C zeigt sich bei Bakterienwachstum ein Farbumschlag von Violett nach Gelb. Die Überlebenszeit beträgt laut Herstellerangabe bei 121° C fünf Minuten und die Abtötungszeit 15 Minuten.

OXOID - Streifen: [4]

Zwei Filterpapierstreifen, die mit Bac. stearothermophilus-Sporen imprägniert sind, werden nach der Mitsterilisation aus der Klarsichthülle unter sterilen Kautelen in ein Nährmedium (CSL) gebracht. Nach viertägiger Inkubation bei 50 bis 60° C erkennt man das Bakterienwachstum lediglich an der Flüssigkeitstrübung. Die Überlebenszeit soll laut Beschreibung des Herstellers bei 121° C fünf Minuten und die Abtötungszeit 15 Minuten betragen.

SPORDI - Streifen: [5]

Auf jedem Filterpapierstreifen befinden sich laut Herstellerangabe 10^4 Sporen von Bac. stearothermophilus und 10^6 Sporen von Bac. subtilis (var. globigii). Bei neueren Chargen werden regelmäßig die genauen Keimzahlen pro Streifen angegeben. Die Sporenstreifen werden nach Mitsterilisation aus der sie umgebenden Papierhülle unter sterilen Bedingungen in CSL-Röhrchen eingebracht. Zur Überprüfung des Sterilisationseffektes von Autoklaven wird das Nährmedium bei 55° C durch 7 Tage bebrütet, um überlebende Keime von Bac. stearothermophilus nachzuweisen. Nach Heißluft- und Gassterilisation wird bei 37° C durch 7 Tage inkubiert, um die Bac. subtilis-Sporen zum Auskeimen zu bringen. Die Trübung der Nährflüssigkeit zeigt in beiden Fällen Wachstum der Bazillen und damit einen ungenügenden Sterilisationseffekt an. Die Überlebenszeit gegenüber gesättigtem Dampf wird vom Hersteller für 121° C (250° F) mit 5 Minuten und die Abtötungszeit mit 13 Minuten angeführt. Für 132,2° C (270° F) sollen die Werte 20 Sekunden bzw. 2 Minuten betragen.

---

3) Hersteller: BBL, Division of Becton, Dickinson and Company, Cockeysville, Maryland 21030 U.S.A.

4) Hersteller: OXOID Limited, London SE 1 9 Hf, England

5) Hersteller: American Sterilizer Company, Erie, Pennsylvania 16512 U.S.A.

STERIKON - Ampullen: [6)]

In geschlossenen Ampullen befinden sich 2 ml CSL mit weiteren Zusätzen und einem Farbindikator (Bromkresolpurpur) sowie Bac. steurothermophilus-Sporen in Suspension. Nach Mitsterilisation werden die Ampullen 24 bis 48 Stunden bei 56° C inkubiert. Am Farbumschlag des Indikators von Violett nach Gelb ist das Bakterienwachstum und damit eine ungenügende Sterilisation zu erkennen. Vom Hersteller wird die Abtötungszeit für 121° C mit 15 Minuten angegeben, darüber hinaus sind folgende Charakteristika angeführt:

Anzahl der Mikroorganismen pro Maßeinheit vor dem Sterilisationsprozeß (n): 300 - 400 Sporen pro ml,

Zeit in Minuten bei einer bestimmten Temperatur (120°C, 121°C, 122°C), die notwendig ist, um die Anzahl der lebensfähigen Sporen auf ein Zehntel zu reduzieren (Dezimale Reduktionszeit):
$D_{120} = 18 \pm 1$ Minuten, $D_{121} = 14 \pm 1$ Minuten, $D_{122} = 7 \pm 1$ Minuten,

Abtötungszeit bei 121° C in gespanntem Wasserdampf: F - Wert = 20 ± 1 Minuten,

Neigung der Abtötungskurve (die Temperaturdifferenz in °C bei 1/10 bzw. 10/1 Hitzeeinwirkungszeit zur Erzielung einer Abtötung von 90%) : z - Wert = ca. 6° C.

Die Haltbarkeit soll bei Lagerung bei 6°C 12 Monate betragen.

Weitere Angaben über diesen Indikator finden sich bei COSTIN u. GRIGO (18) sowie bei HOLSTEIN (26).

Sporenerde:

Zu Vergleichszwecken verwendeten wir die von uns nach DIN 58947 präparierte Sporenerde. Mainzer Gartenerde wurde getrocknet und auf eine Korngröße von 0,8 mm gesiebt. Jeweils ca. 1 g dieser Sporenerde wurde in Filterpapier eingeschlagen und je zwei dieser Päckchen nochmals zusammengepackt.

Nach Mitsterilisation entnahmen wir die Sporenerde-Päckchen unter sterilen Bedingungen aus der äußeren Papierhülle, gaben sie in standardisierte Bouillon- und Thioglykolat-Nährlösungen und bebrüteten für 14 Tage bei 37°C. Am 1., 3., 7. und 14. Tag wurde anhand der Flüssigkeitstrübung auf Bakterienwachstum kontrolliert. Von positiven Proben erfolgten mikroskopische Kontrollen, gegebenenfalls legten wir Subkulturen an. Die Resistenz der Erde soll so groß sein, daß von 30 Proben nach 5-minütigem Einwirken von Wasserdampf von 120°C $\pm$ 1°C die Hälfte, jedoch mindestens ein Drittel der behandelten Sporenerde-Päckchen Wachstum zeigen soll. Da in dem von uns für die Versuche verwendeten Autokla-

---

6) Hersteller: E. Merck, Darmstadt, BRD

ven bereits nach 30 Sekunden eine Temperatur von 123,5°C erreicht war, und diese um 2,5°C über dem Wert der DIN-Vorschrift für die Resistenzprüfung liegt, ist die bei dieser höheren Temperatur von uns festgestellte Resistenz von 4 Minuten ausreichend.

IV. EIGENE EXPERIMENTE

1.0. Ausgangskeimzahl-Bestimmung der verschiedenen biologischen Indikatoren

Die beschriebenen Keimzahl-Bestimmungen wurden jeweils dreimal bei Erhalt der Chargen durchgeführt, nach längerer Lagerung erfolgte eine Wiederholung.

1.1. Methode

1.1.1. Sporenstreifen: ATTEST, KILIT, OXOID, SPORDI

Die Zerfaserung der Streifen erfolgte unter sterilen Bedingungen 2 Minuten lang mit einem Mixer[7] bei 10000 U/Min. in 50 ml CSL mit 3% Tween 80, 0,3% Lezithin und 0,1% Histidin. (Die Substanzen wurden zur Verminderung der Oberflächenspannung und damit zur besseren Suspendierung der Sporen zugesetzt. Vergleichende Vorversuche hatten ergeben, daß durch diese Methode eine optimale Rückgewinnungsrate zu erzielen war.) Von der so erhaltenen Keimsuspension wurden zweimal je 1,0 ml auf CSA-Platten (Caseinpepton-Sojabohnenmehlpepton-Agar-OXOID) aufgebracht und mittels steriler Glasspatel verteilt. Nach Vortrocknung erfolgte die Bebrütung bei 56°C durch 48 Stunden. Die mit dieser Methode bestimmbaren Keimzahlen liegen zwischen 25 und etwa 15000 Keime in 50 ml. Zur Ermittlung höherer Keimzahlen setzten wir Verdünnungsreihen an und verfuhren entsprechend.

1.1.2. Ampullen: KILIT, STERIKON

Aufgrund von Vorversuchen entschieden wir uns, die Ampullen während 15 Minuten im Wasserbad von 40°C zu erwärmen. Dadurch konnte bei KILIT-Ampullen eine fünffach höhere Keimzahl erreicht werden. Bei STERIKON-Ampullen hatte die kurzzeitige Wärmebehandlung keinen Einfluß auf die Keimzahlen.

Anschließend wurden zweimal je 0,5 ml des Ampulleninhaltes auf jeweils eine CSA-Platte

---

7) "IKA-ULTRA-TURAX" der Firma Jahnke und Kunkel KG, 7813 Staufen b. Freiburg BRD

aufgetragen und mit sterilen Glasspateln verteilt. Die Bebrütung dauerte nach Vortrocknung 48 Stunden. Die minimale Erfassungsgrenze betrug mit dieser Methode für KILIT-Ampullen 3 Keime in 3 ml und für STERIKON 2 Keime pro Ampulle (2 ml).

1.1.3. Sporenerde

Da bei der Erde eine genaue Bestimmung der Keimzahlen nicht möglich ist, wurden nur Auswachsproben durchgeführt.

1.2. Ergebnisse

Tabelle 1 Ausgangskeimzahlen der verschiedenen biologischen Indikatoren

Fabrikat	Erhalt der Lieferung	Lagerung	Keimzahlen pro Fabrikat (Bac. stearothermoph.)	arithmetischer Mittelwert	(n)
ATTEST-	März 74	keine	160 000 / 177 000 / 141 000	159 000	(3)
Indikatoren	Mai 74	keine	10 350 / 10 675 / 16 250		
			13 975 / 10 650 / 12 025	12 320	(6)
	Juni 74	keine	45 400 / 43 400 / 33 240	40 680	(3)
	Juli 74	keine	137 500 / 128 000 / 108 000	124 500	(3)
KILIT-Ampullen	Jan. 74	keine	1 450 / 1 700 / 1 730	1 630	(3)
	April 74	keine	1 430 / 945 / 995	1 120	(3)
	April 74	2 Mon.	620 / 1 025 / 985	880	(3)
KILIT-Streifen	Jan. 74	keine	850 / 930 / 1 000	930	(3)
	April 74	keine	780 / 880 / 860	840	(3)
	Juni 74	keine	1 200 / 1 275 / 1 335	1 270	(3)
OXOID-Streifen	Dez. 73	keine	600 / 2 000 / 2 200	1 600	(3)
	April 74	keine	425 / 450 / 625	500	(3)
	April 74	2 Mon.	0 / 0 / 0	0	(3)
	April 74	2 Mon.	25 / 50 / 75	50	(3)
SPORDI-Streifen	April 74	keine	6 050 / 7 700 / 10 600	8 120	(3)
	Juni 74	keine	35 500 / 26 000 / 19 000	26 830	(3)
STERLIKON-Ampullen	Dez. 73	keine	344 / 280 / 336	320	(3)
	April 74	keine	144 / 168 / 254	189	(3)
	April 74	2 Mon.	196 / 198 / 190	195	(3)

Nur für SPORDI-Streifen und STERIKON-Ampullen werden vom Hersteller Keimzahlen angegeben (bei SPORDI ist jeder Packung eine entsprechende Informationskarte beigefügt). Die von uns festgestellten Keimzahlen von SPORDI-Streifen liegen bei der einen Lieferung geringgradig unter und bei der Lieferung vom Juni 74 bis zum Dreifachen über der vom Hersteller angegebenen Zahl von 10 000. Bei STERIKON-Ampullen beträgt die Keimzahl etwa die Hälfte bis ein Drittel der Herstellerangabe von 300 bis 400 pro ml.
Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, zeigen die Keimzahlen der von uns zu verschiedenen Zeitpunkten erhaltenen Chargen vor allem bei ATTEST-Indikatoren sowie OXOID-Streifen deutliche Unterschiede. Bei ATTEST-Indikatoren waren 10^4 bis 10^5 Keime nachweisbar, bei OXOID-Streifen betragen die Mittelwerte einmal 1 600 und bei der anderen Lieferung 500. Bei KILIT-Ampullen, KILIT-Streifen und STERIKON-Ampullen sind die Keimzahldifferenzen innerhalb der verschiedenen Chargen gering.

Die Unterschiede der ermittelten Keimzahlen innerhalb einer Charge sind bei OXOID-Streifen auffällig, die Werte schwanken zwischen 600 und 2 200. Bei den anderen Fabrikaten liegen die mit unserer Methode festgestellten Keimzahlen innerhalb einer Charge eng beeinander

Während einer zweimonatigen Lagerung war bei KILIT-Ampullen eine leichte Abnahme der Keimzahl festzustellen. Die Lagerung über den gleichen Zeitraum ergab bei OXOID-Streifen einen Rückgang der Keimzahl um $5 \cdot 10^2$, während bei STERIKON-Ampullen der Mittelwert entsprechender Keimzahlen gleich blieb. In diesem Zusammenhang ist zu betonen, daß die Lagerung aller Indikatoren bei Zimmertemperatur durchgeführt wurde. Zu diesem Vorgehen hatten wir uns entschlossen, um möglichst praxisnahe Bedingungen nachzuahmen.

2.0. Keimzahlreduktion beim Autoklavieren

Um Absterbekurven zu erhalten, exponierten wir je 3 Proben der verschiedenen Indikatoren in jeweils denselben Ansätzen im Autoklaven in einem Temperaturbereich von 121°C für 2, 3, 4 und gegebenenfalls 5 Minuten, und bei 134°C für 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 und gegebenenfalls bis zu 240 Sekunden. Anschließend wurden die Keimzahlen bestimmt. Jeder Ansatz wurde zweimal reproduziert.
Weiterhin führten wir in parallelen Ansätzen Sterilitätsproben zur Ermittlung der Überlebens- und Abtötungszeiten durch. Auch hierbei wurden in 3 Ansätzen jeweils 3 Proben pro Indikator eingesetzt.

2.1. Material und Methodik

Für unsere Versuche verwendeten wir einen Kleinautoklaven der Firma Stiefenhofer Nr. 10518/2, der mit Hausdampf von 2,5 atü betrieben wurde. Die Kammer hat einen Rauminhalt von 92 l. Die Bedienung des Gerätes erfolgte über Handsteuerung. Das Vorvakuum von etwa 70 Torr war nach längstens 30 Sekunden erreicht; die Zeitmessung erfolgte vom Zeitpunkt der Umschaltung von "Vorvakuum" auf "Sterilisieren" bis zur Umschaltung auf "Trocknen" (Dampfabsaugen). Der Druck von 1 atü bzw. die Temperatur von 121°C war nach 7 bis 8 Sekunden erreicht, der Druck von 2 atü bzw. die Temperatur von 134°C nach 17 bis 20 Sekunden. Der Temperatur- bzw. Druckrückgang erfolgte in etwa den gleichen Zeiräumen. Das Dampfabsaugen bei ca. 70 Torr dauerte 30 Sekunden. Die erreichten Temperaturen wurden mit einem Maximalthermometer überprüft; dabei stellten wir fest, daß bei der Einstellung "Sterilisieren 121° C" bereits nach 30 Sekunden eine Temperatur von 123,5°C erreicht war. Bei jeder Temperatur-Zeit-Kombination gaben wir pro Fabrikat 3 Proben bzw. 9 Sporenerdepäckchen in einem Drahtkorb in die Kammer des Autoklaven. Jeder Versuch wurde zweimal reproduziert. Die Ampullen wurden nach dem Sterilisationsgang im Wasserbad auf Zimmertemperatur abgekühlt, um ein vorzeitiges Auskeimen der Sporen zu verhindern. Die Keimzahlbestimmungen erfolgten wie unter 1.1. beschrieben. Bei der Prüfung auf Sterilität verfuhren wir nach der für jeden Indikator angegebenen Beschreibung (s. III), allerdings wurden alle Proben einheitlich bei 56°C inkubiert. Die ATTEST-Indikatoren bebrüteten wir zur Vermeidung einer Austrocknung im Wasserbad.

2.2. Ergebnisse

Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, wurden bei ATTEST-Indikatoren die höchsten Ausgangskeimzahlen und bei STERIKON-Ampullen die niedrigsten festgestellt, jedoch nähern sich diese beiden Kurven im Übergang zum Sterilbereich an. KILIT-Ampullen sowie KILIT- und OXOID-Streifen liegen in den Ausgangskeimzahlen eng beeinander und zeigen auch einen ähnlichen Kurvenverlauf; die von uns ermittelten Abtötungszeiten differieren nicht mehr als eine Minute (Tabelle 2). Die Präparation von SPORDI-Streifen mit hohen Ausgangskeimzahlen zeigt im Vergleich zu den anderen getesteten Indikatoren den steilsten Kurvenverlauf und die geringste Resistenz.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Überprüfung der Sterilität der einzelnen Indikatoren im Vergleich zu der Sporenerde wiedergegeben. Wie daraus hervorgeht, sind die Übergangsbe-

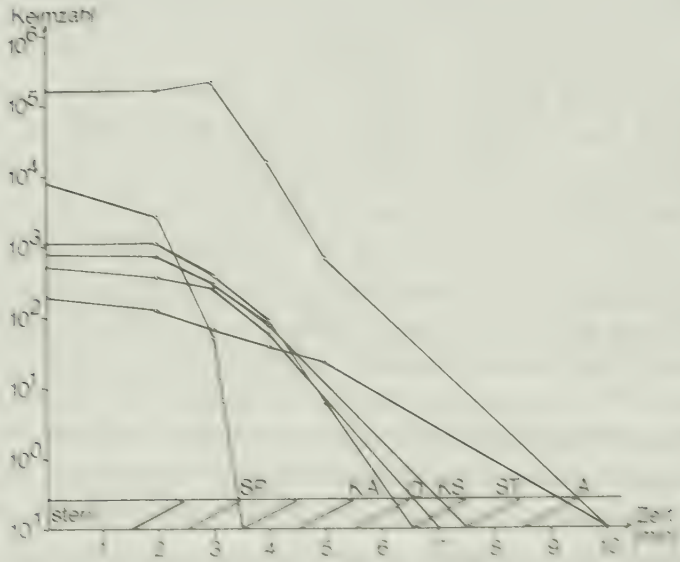

Abb. 1 Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 123,5°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit. Im Sterilbereich sind von 9 eingesetzten Proben alle steril.
A = ATTEST-Indikatoren KA = KILIT-Ampullen SP = SPORDI-Streifen
O = OXOID-Streifen KS = KILIT-Streifen ST = STERIKON-Amp

reiche zwischen Wachstum in allen 9 Proben, bei insgesamt 3 Versuchsansätzen, und Steri- lität bei den handelsüblichen Präparationen weit enger als bei der Sporenerde; bei letzterer sind mehr "Springer" festzustellen.

Aus Tabelle 2 ist die hohe Resistenz von ATTEST-Indikatoren und STERIKON-Ampullen ersichtlich. Nach der relativ kurzen Einwirkungszeit von 3 Minuten (123,5°C) ist von den 9 SPORDI-Proben nur noch eine bewachsen.

Die Sporenerde liegt mit ihrer Resistenz zwischen den empfindlichen SPORDI-Streifen und den anderen Indikatoren.

Tabelle 2: Ergebnisse der Prüfungen der Sterilität in den Grenzbereichen nach Autoklavieren bei 123,5°C
Drei Symbole in der horizontalen Reihe zeigen die Ergebnisse bei einem Ansatz.
Die Ergebnisse der Sporenerde sind als geordnete Zusammenfassung aus 3 Ansätzen 3 x Proben dargestellt.
Zeichenerklärung: + = Wachstum = unsteril
– = kein Wachstum = steril
/ = nicht durchgeführt

Fabrikat	Expositionszeit in Minuten														
	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	9	10
AFTESI-Indikatoren	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	++– +–	+	++– +–	++– +–	–– ––
KIULI-Ampullen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	++– +–	–– ––	/	/	/	/	/
KIULI-Streifen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	++– +–	++– +–	++– +–	–– ––	+	+	+
ONOID-Streifen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	++– +–	++– +–	–– ––	/	/	/	/
BENNOI-Streifen	++– +–	++– +–	++– +–	–– ––	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
STERIKON-Ampullen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+	++– +–	+	++– +–	++– +–	–– ––
Sporenerde															
Thioglykolat	+++ +++ +++ +++ +++	++– +– / /	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	++– +– +– +– +–	++– +– +– +– +–	–– –– +– +– +–	+	–– –– +– +– +–	/	/	/	/
Bouillon	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ + +	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++	++– +– +– +– +–	–– –– +– +– +–	+++ +++ +++ +++ +++	+	–– –– +– +– +–	/	/	/	/

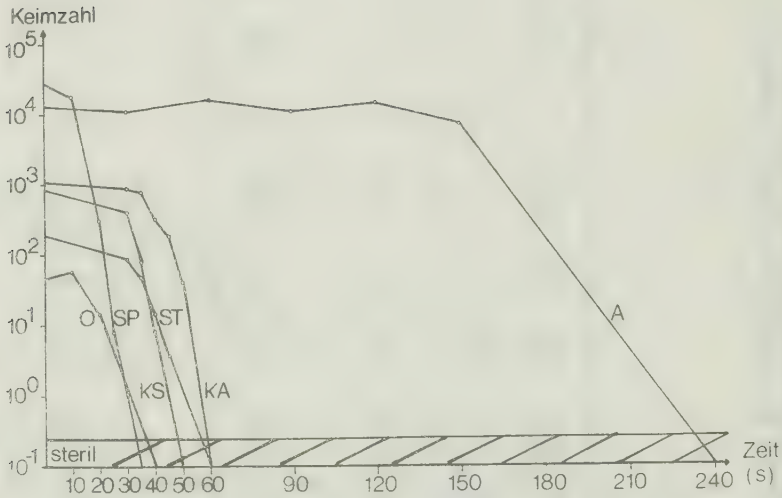

Abb. 2: Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 134°C in Abhängigkeit der Expositionszeit. Im Sterilbereich sind von 9 eingesetzten Proben alle steril.
A = ATTEST-Indikatoren KA = KILIT-Ampullen SP = SPORDI-Streifen
O = OXOID-Streifen KS = KILIT-Streifen ST = STERIKON-Amp.

Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, sind die Unterschiede bei 134°C in der Thermoresistenz nicht so auffällig wie bei der geringeren Temperatur. Auszunehmen sind die ATTEST-Indikatoren, deren Abtötungszeit um das Dreifache länger ist als die der beiden Ampullen-Präparationen KILIT und STERIKON Auch die Tabelle 3 weist aus, daß bei 134°C die Resistenz von ATTEST-Indikatoren am höchsten liegt.

Die Resistenzen von KILIT- und STERIKON-Ampullen unterscheiden sich bei dieser Temperatur nur gering, liegen aber doch etwa 20 Sekunden über der der Sporenerde. Annähernd gleiche Werte wurden zwischen der Sporenerde und KILIT-Streifen beobachtet. Die Resistenz von OXOID- und SPORDI-Streifen liegt etwas darunter.

Tabelle 3: Ergebnisse der Prüfungen der Sterilität in den Grenzbereichen nach Autoklavieren bei 134°C.
Drei Symbole in der horizontalen Reihe zeigen die Ergebnisse bei einem Ansatz.
Zeichenerklärung: + = Wachstum = unsteril
- = kein Wachstum = steril
/ = nicht durchgeführt

Fabrikat	Expositionszeit in Sekunden												
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	150	180	210	240
ATTEST-Indikatoren	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+--	---
KILIT-Ampullen	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--	---	/	/	/	/
KILIT-Streifen	+++	+++	+++	+++	+--	++-	---	/	/	/	/	/	/
OXOID-Streifen	+++	++-	+--	+++	---	/	/	/	/	/	/	/	/
SPORDI-Streifen	+++	++-	+++	+--	---	/	/	/	/	/	/	/	/
STERIKON-Ampullen	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+--	---	/	/	/	/
Sporenerde													
Thioglykolat	+++	+++	+++	++-	+--	+--	---	/	---	/	/	/	/
Bouillon	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	/	---	/	/	/	/

3.0. Keimzahlreduktion nach Einwirkung von trockener Hitze

Das Manometer eines Autoklaven zeigt den Kammerdruck an. Bei einem Gemisch aus Luft und gesättigtem Dampf ergibt sich der Gesamtdruck aus der Summe der Einzeldrucke nach dem Gesetz von Dalton. Der gesättigte Dampf im lufterfüllten Raum besitzt den gleichen Druck wie im ausschließlich mit Dampf erfüllten. Das Manometer zeigt also nicht an, ob sich in der Kammer noch Luft befindet (4).

Die tolerierbare Grenze des Luftgehalts liegt bei 10%. Höhere Luftanteile führen nicht selten zur Bildung von Luftinseln im Sterilisiergut und damit zu einem ungenügenden Sterilisationseffekt.

Um eventuelle Fehlinterpretationen bei der Verwendung von Indikator-Präparationen auszuschließen, überprüften wir deshalb die Indikatoren, in welcher Zeit die Sporen auch ohne Wasserdampfeinwirkung, also nur durch trockene Heißluft, bei einer der Autoklavierung entsprechenden Temperatur abzutöten sind.

3.1. Material und Methodik

Als Heißluftsterilisator verwendeten wir ein Gerät der Firma Neuberger, Typ U 5 KKf mit Luftumwälzung. Der Temperaturverlauf in der Kammer wurde mittels Thermoelementen über einen potentiometrischen Sechskanal-Kompensationsschreiber TRANSOKOMP 192, Typ TEU 72 K, registriert. Ab Erreichen der Betriebstemperatur konnten bei dem Gerät Schwankungen von 2,5°C gemessen werden. Nach Anheizen auf die gewünschte Betriebstemperatur wurden die Indikatoren offen in einem Drahtkorb exponiert; von diesem Zeitpunkt ab erfolgte auch die Zeitmessung. Pro Indikator wurden jeweils 3 Proben eingesetzt. Jede Temperatur - Zeit - Kombination reproduzierten wir zweimal. Die Keimzahlbestimmungen und die Prüfungen auf Sterilität erfolgten wie unter 1.1. und 2.1. beschrieben.

3.2. Ergebnisse

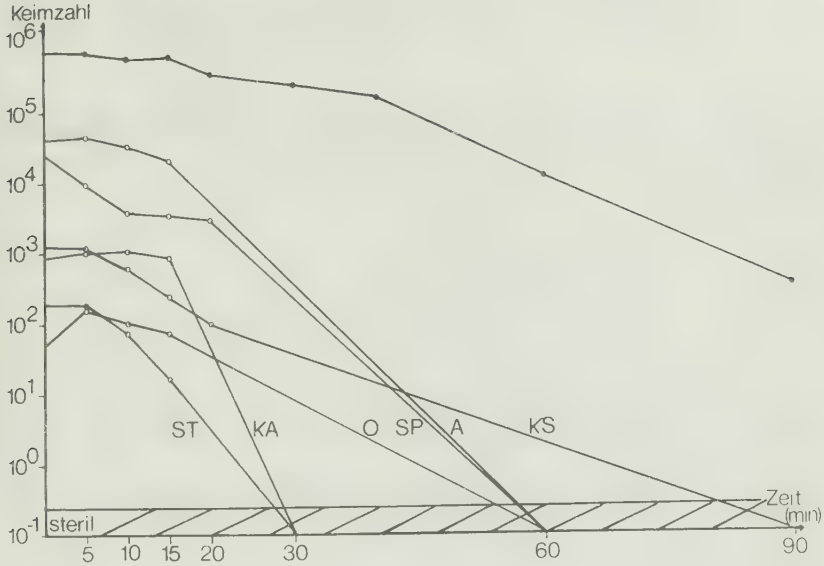

Abb. 3: Keimzahlreduktion nach Einwirkung von Heißluft in einem Temperaturbereich von 120 - 125°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit. Die schwarzen Kreise stellen die Keimzahlreduktion von Bac. subtilis der SPORDI-Streifen dar. Im Sterilbereich sind von 9 eingesetzten Proben alle steril.

A = ATTEST-Indikatoren KA = KILIT-Ampullen SP = SPORDI-Streifen
O = OXOID-Streifen KS = KILIT-Streifen ST = STERIKON-Amp.

Tabelle 4: Ergebnisse der Prüfungen der Sterilität in den Grenzbereichen nach Einwirkung von trockener Hitze in einem Temperaturbereich von 120°C - 125°C. Drei Symbole in der horizontalen Reihe zeigen die Ergebnisse bei einem Ansatz

Zeichenerklärung: + = Wachstum = unsteril
- = kein Wachstum = steril
/ = nicht durchgeführt

Fabrikat	Einwirkungszeit der Heißluft in Minuten								
	5	10	15	20	30	40	50	60	90
ATTEST-Indikatoren	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	/
KILIT-Ampullen	+++	+++	+++	++-	---	/	/	/	/
KILIT-Streifen	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	---	---
OXOID-Streifen	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	---	/
SPORDI-Streifen	+++	+++	+++	+++	+++	+--	---	---	/
STERIKON-Ampullen	+++	+++	+++	++-	---	/	/	/	/
Sporenerde									
Thioglykolat	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bouillon	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

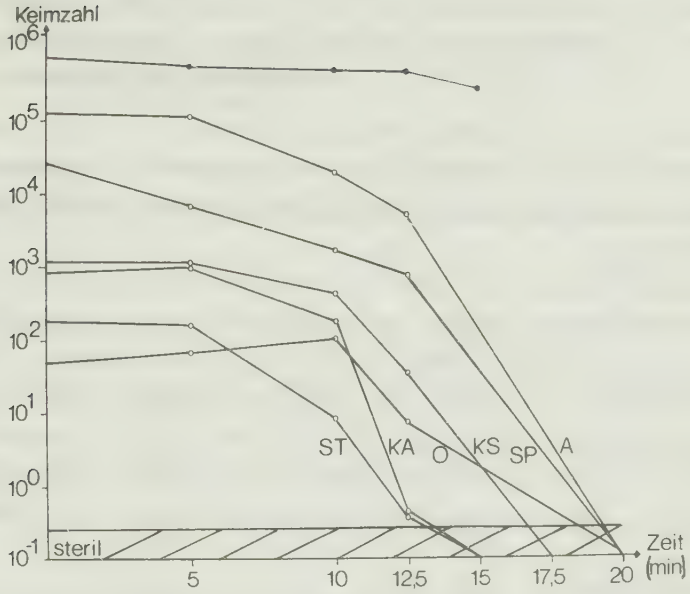

Abb. 4: Keimzahlreduktion nach Einwirkung von Heißluft in einem Temperaturbereich von 133 - 138°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit.
Die schwarzen Kreise stellen die Keimzahlreduktion von Bac. subtilis der SPORDI-Streifen dar.
Im Sterilbereich sind von 9 eingesetzten Proben alle steril.

A = ATTEST-Indikatoren KA = KILIT-Ampullen SP = SPORDI-Streifen
O = OXOID-Streifen KS = KILIT-Streifen ST = STERIKON-Amp.

Tabelle 5: Ergebnisse der Prüfungen der Sterilität in den Grenzbereichen nach Einwirkung von trockener Hitze in einem Temperaturbereich von 133° - 138°C.
Drei Symbole in der horizontalen Reihe zeigen die Ergebnisse bei einem Ansatz.
Zeichenerklärung: + = Wachstum = unsteril
- = kein Wachstum = steril
/ = nicht durchgeführt

Fabrikat	Einwirkungszeit der Heißluft in Minuten					
	5	10	12,5	15	17,5	20
ATTEST-Indikatoren	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++	+-- ---	+-- --- ---	--- --- ---
KILIT-Ampullen	+++ +++ +++	++- --- ---	+-- --- ---	--- --- ---	---	/
KILIT-Streifen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ ++- ++-	+++ ++- +--	--- --- ---	--- --- ---
OXOID-Streifen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ ++- ++-	+-- --- ---	--- --- ---
SPORDI-Streifen	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ ++- +--	++- +-- ---	+-- --- ---	--- --- ---
STERIKON-Ampullen	+++ +++ +++	++- ++- ---	+-- --- ---	--- --- ---	---	/
Sporenerde						
Thioglykolat	+++	+++	+++	+++	+++	+++ +++ +++
Bouillon	+++	+++	+++	+++	+++	+++ +++ +++

Die Darstellungen lassen erkennen, daß die Bac. stearothermophilus-Sporen der Indikatoren auch durch die Einwirkung trockener Hitze abgetötet werden. In Abbildung 3 und 4 sieht man z.B., daß erst nach einer Erwärmungszeit von etwa 5 Minuten ein Abtötungseffekt eintritt. Bei SPORDI-Streifen ist diese Verzögerung allerdings nicht vorhanden, denn hier fallen die Abtötungskurven in beiden Temperaturbereichen sofort ab.

Alle vier Sporenstreifen-Präparationen zeigen eine annähernd gleich hohe Resistenz gegen Heißlufteinwirkung. Die Abtötungszeiten betragen im Temperaturbereich von 120 - 125°C (Tabelle 4) 60 - 90 Minuten und im Bereich von 133 - 138°C (Tabelle 5) 17,5 - 20 Minuten.
Wie zu erwarten, wiesen die beiden Ampullen-Präparationen gegenüber trockener Heißluft eine geringere Resistenz als die Sporenstreifen auf. Der Kurvenverlauf dieser beiden Indikatoren ist entsprechend steiler als die Kurven der Streifen-Präparationen. Nach Heißlufteinwirkung in einem Temperaturbereich von 120 - 125°C (Tabelle 4) waren nach 20 Minuten von 9 Proben 4 steril; in dem höheren Temperaturbereich (Tabelle 5) betrug der Sterilanteil der Ampullen nach 10-minütiger Exposition mehr als die Hälfte. Die von uns verwendete Sporenerde zeigte bei diesen Versuchen die weitaus größte Resistenz.

4.0. Der Einfluß unterschiedlicher Verpackungen

Die folgenden Versuche wurden zur Abklärung der Frage durchgeführt, ob die Thermoresistenz vorwiegend auf den Präparationsweisen der Sporen oder der Art der Verpackung beruht.

4.1. Material und Methodik

Das Autoklavieren und die Zeitmessung erfolgten in der gleichen Art und Weise wie unter 2.1. beschrieben. Vor dem Autoklavieren wurden die Sporenstreifen bei diesen Versuchen aus den Papier- bzw. Plastikhüllen entnommen und jeweils 3 Proben pro Indikator in einem Drahtkorb dem gesättigten Wasserdampf von 123,5°C ausgesetzt. Teilweise erfolgten die Versuche gemeinsam mit den Sterilisationsläufen der vorhergehenden Serie (Versuch 2.1.). Die Keimzahlbestimmungen führten wir wie unter 1.1. beschrieben durch. Eine Endpunktkontrolle nahmen wir nicht vor, da die Möglichkeit einer Rekontamination der unverpackten Indikatoren nicht auszuschließen war. Die Vergleiche erfolgten mit den normalverpackten Sporenstreifen-Präparationen. Die Rests wurden zweimal reproduziert. Die Streifen des ATTEST-Indikators wurden zu Vergleichszecken zusätzlich in den Papiertütchen, die von der Firma OXOID zur Umhüllung der OXOID-Sporenstreifen mitgeliefert werden, exponiert.

4.2. Ergebnisse

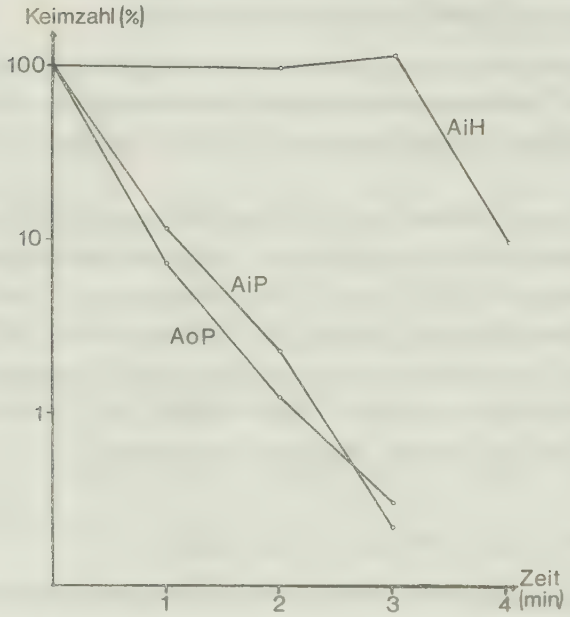

Abb. 5: Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 123,5°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

AiH = ATTEST-Sporenstreifen in Plastikhülse
AIP = ATTEST-Sporenstreifen in Papierumschlag
AoP = ATTEST-Sporenstreifen ohne Papierumschlag, also frei exponiert

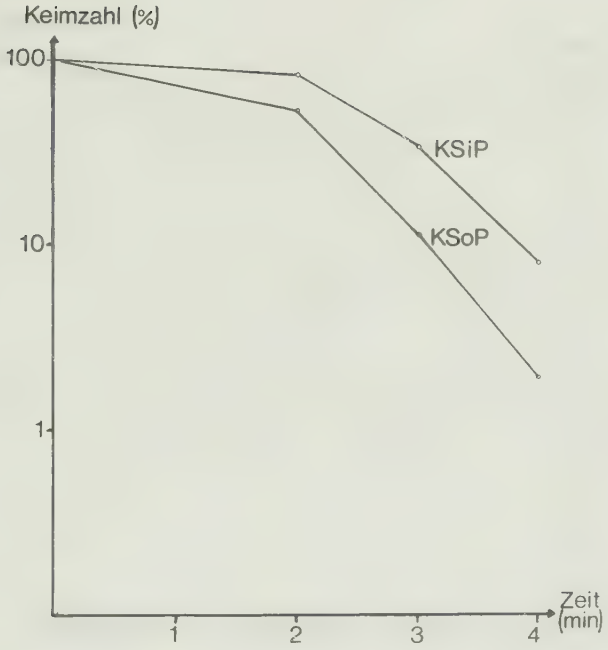

Abb. 6: Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 123,5°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

KSiP = KILIT-Sporenstreifen in Papierumschlag
KSoP = KILIT-Sporenstreifen ohne Papierumschlag, also frei exponiert

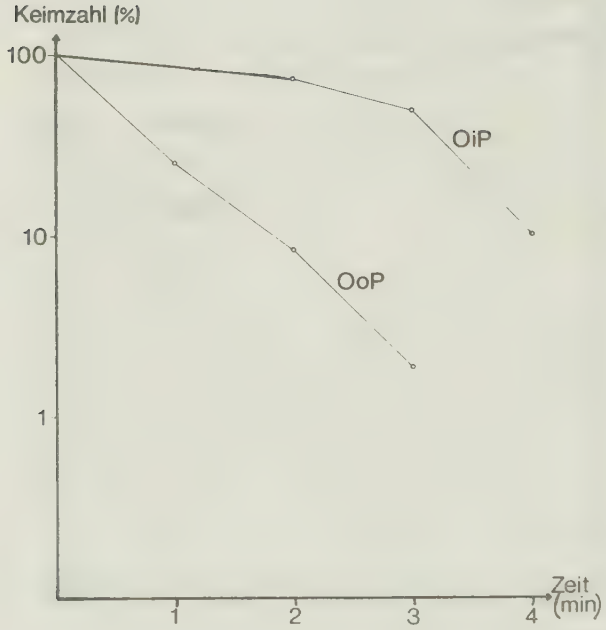

Abb. 7: Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 123,5°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

OiP = OXOID-Sporenstreifen in Papierumschlag
OoP = OXOID-Sporenstreifen ohne Papierumschlag, also frei exponiert

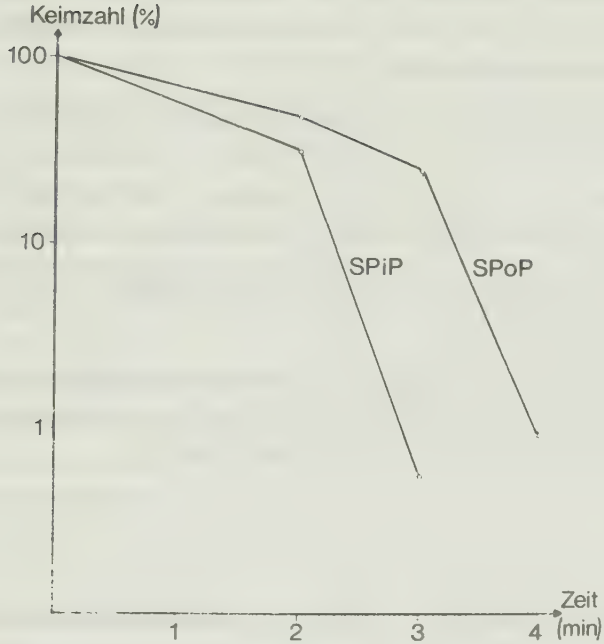

Abb. 8: Keimzahlreduktion nach Autoklavierung bei 123,5°C in Abhängigkeit von der Expositionszeit.

SPiP = SPORDI-Sporenstreifen in Papierumschlag
SPoP = SPORDI-Sporenstreifen ohne Papierumschlag, also frei exponiert

Die Keimzahlreduktionen sind in Prozent der Ausgangskeimzahlen angegeben, um einen direkten Vergleich zwischen verpackten (siehe 2.2.) und unverpackten Sporenstreifen zu ermöglichen. Diese graphischen Darstellungen erlauben also auch einen Vergleich von Chargen mit unterschiedlichen Ausgangskeimzahlen.

Aus Abbildung 5 ist ersichtlich, daß die Sporenstreifen von ATTEST-Indikatoren eine raschere Keimzahlreduktion aufweisen, wenn sie entweder frei oder nur in einem Papierumschlag dem Wasserdampf ausgesetzt werden, als in normaler Verpackung in der Plastikhülse. Die beiden Kurven für ATTEST-Streifen im Papierumschlag und ohne Umschlag verlaufen in etwa gleich.

Die Keimzahlreduktionen von KILIT- und OXOID-Streifen (Abbildung 6 und 7) sind dagegen ohne Papierumhüllung beschleunigt.

Die Keimzahlabnahme von SPORDI-Streifen ohne Papierumschlag erfolgte langsamer als die der verpackten Sporenstreifen (Abbildung 8). Wegen dieses nicht zu erwartenden Ergebnisses wurde dieser Versuch öfter reproduziert und das Ergebnis bestätigt.

V. DISKUSSION

Wie die verschiedenen Berichte über hohe Fehlerquoten bei der Überprüfung von Sterilisationsergebnissen zeigen, ist die Kontrolle des Sterilisationseffektes unumgänglich. Die vom Fachmann durchzuführenden regelmäßigen Untersuchungen mit Sporenerde nach DIN 58947 können aber nur in größeren Zeitabständen erfolgen. Neben der Schwierigkeit der Standardisierung derartiger Erdproben bestehen auch noch weitere Nachteile, wie zum Beispiel die Notwendigkeit der Herstellung besonderer Nährmedien und des sterilen Arbeitens in einer "reinen Werkbank" sowie langer Bebrütungszeiten. Daher sind solche Arbeiten nur von gut geschultem Personal ausführbar. Wird die Mitsterilisation von Erdproben durch das Krankenhauspersonal selbst durchgeführt, so ist ebenfalls mit verschiedenen Fehlermöglichkeiten zu rechnen; erwähnt sei das Einlegen an unrichtigen Stellen, die leichtere Kontamination bei noch feuchter Entnahme, sowie Beschädigungen beim Transport. In diesen Fällen kann vom Laboratorium lediglich die Bestätigung gegeben werden, daß die eingesendeten Erdproben bei standardisierten Kulturmethoden Wachstum aufweisen oder nicht. Bei unsterilen Proben läßt sich nicht sagen, ob die Proben wegen ungenügender Sterilisation oder bedingt durch eine sekundäre Kontamination Wachstum zeigen. Auch bei sterilen Proben läßt sich keine eindeutige Aussage über den Sterilisationseffekt treffen, da die erwähnten Fehlermöglichkeiten oder aber eine

Überladung des Autoklaven zwar zu sterilen Erdproben, aber unsterilem Beschickungsgut führen können. Zwischen den regelmäßigen fachmännischen Überprüfungen müssen zusätzlich laufend Selbstkontrollen durch das Krankenhauspersonal durchgeführt werden. Die gestellten Forderungen an solche für Selbstkontrollen geeigneten Indikatoren werden am besten von den sogenannten Bioindikatoren erfüllt (36). (Daneben sind die laufenden physikalischen Kontrollen von Druck und Temperatur und chemischen Indikatoren zur sofortigen Kontrolle unerläßlich.)

Die Liste der Sicherheitsforderungen an diese Bioindikatoren wurde bereits in dem MEMORANDUM of the DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE from August 23rd, 1955 aufgestellt, von ARTANDI (2) 1969 diskutiert und von COSTIN und GRIGO (18) 1973 erweitert. Danach müssen die Keime apathogen sein, sie dürfen weder Toxine noch Pyrogene bilden, und eine Vermehrung darf bei einer Temperatur von $\leq$ 37°C nicht möglich sein. Ferner muß durch die Art der Verpackung eine Kontamination des Sterilisiergutes ausgeschlossen sein und bei der Übertragung der Indikatorkeime in das Kulturmedium zwecks Kontrolle ihrer Lebensfähigkeit jedes Kontaminationsrisiko vermieden werden. Der Bac. stearothermophilus erfüllt als Mikroorganismus diese Sicherheitsanforderungen und weist eine hohe Thermoresistenz auf; er wurde als Testkeim für die Autoklavierungskontrolle von den National Institutes of Health empfohlen.

Die Schwierigkeiten bei der Entwicklung und Standardisierung von Bioindikatoren, die zur Autoklavierungskontrolle eingesetzt werden können, wurden in vielen Arbeiten beschrieben (z.B. 18, 32). Mitentscheidend für die Thermoresistenz und deren Konstanthaltung während der Lagerung ist neben der Auswahl des Stammes auch dessen Präparationsweise. Die Subkulturbedingungen und nicht zuletzt die Anzahl der Sporen pro Indikator sind weiterhin entscheidende Kriterien für die Standardisierung der Bioindikatoren.
Die biologischen Präparationen zur laufenden Selbstkontrolle durch das Krankenhauspersonal müssen weiterhin einfach in ihrer Handhabung und ohne besondere Vorschulung ausführbar, sowie sicher und leicht beurteilbar sein. Darüber hinaus ist eine möglichst kurze Bebrütungszeit wünschenswert. Als wesentliche Leistungscharakteristika sind zu fordern, daß die entsprechenden Bedingungen wie Temperatur und Wasserdampf erfaßt werden müssen.
Aus dieser letztgenannten Forderung ist abzuleiten, daß derartige biologische Präparationen abgefüllt in Ampullen für die Prüfung des Sterilisationseffektes im Krankenhaus nicht geeignet sind, da in der Ampulle durch flüssige Nährmedien immer 100% Feuchte vorliegt. Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, kann bei diesen Präparationen auch durch Einwirkung von

trockener Hitze im Temperaturbereich von 120 - 125°C schon nach 20 Minuten eine Abtötung erzielt werden. Daß der Abtötungsvorgang im Autoklaven beschleunigt ist (die Abtötungszeiten betrugen in unseren Versuchen bis zu 10 Minuten), erklärt sich aus der Tatsache, daß der Wärmeinhalt von Wasserdampf weit größer ist als der von heißer Luft, d.h. der Ampulleninhalt wird im Autoklaven schneller aufgeheizt. Bei den Abtötungszeiten (von 9 Proben alle steril) von 30 Minuten in trockener Hitze bei 120 - 125°C und von 15 Minuten bei 133 - 138°C ist außerdem zu beachten, daß diese Werte ab dem Einlegen der Ampullen in das vorgeheizte Gerät gemessen wurden. Es fand also keine Vorwärmung der Ampullen statt, woraus sich auch die Verzögerung des Abtötungsvorganges (siehe Abbildung 3 und 4) erklärt Mit solchen Ampullenpräparationen kann also im Autoklaven bei Vorliegen von Luftinseln fälschlicherweise Sterilisation angezeigt werden. Der Einsatz von Ampullen für die Selbstkontrolle im Krankenhaus würde folglich die regelmäßige Nachprüfung des Wasserdampfgehalts voraussetzen und nur bei einem Sterilisiergut möglich sein, in dem keine Luftinseln entstehen können. Da diese Bedingungen praktisch nur bei der Herstellung von ampullierten Arzneimitteln gegeben sind, empfiehlt sich die Verwendung ausschließlich in solchen Bereichen.

Bei dem Gebrauch der verschiedenen Sporenstreifen sind die Voraussetzungen für steriles Arbeiten sicherzustellen. Wenn es allerdings bei dem einen Präparat (KILIT-Streifen) nicht notwendig ist, spezielle Nährböden anzuwenden - die Filterpapierstreifen sind mit Nährsubstanz imprägniert -, so müssen aber auch hier die Subkulturen mit großer Sorgfalt in sterilem Aqua dest. angelegt werden. Lediglich einer der von und geprüften handelsüblichen Sporenstreifen-Indikatoren (ATTEST) stellt ein geschlossenes System dar; dabei ist das Anlegen der Subkultur ohne steriles Arbeiten und ohne weitere Hilfsmittel (Nährmedien etc.) möglich, also auch an Ort und Stelle vom Krankenhauspersonal durchführbar.

Aus Abbildung 9 und Tabelle 6 erkennt man die hohe Resistenz von ATTEST-Indikatoren und STERIKON-Ampullen nach Autoklavieren bei 123,5°C im Vergleich zu den anderen geteste-ten Fabrikaten, von denen SPORDI-Streifen die weitaus geringste Resistenz aufweisen. Die Überlebenszeiten betragen in beiden Fällen 6 Minuten und die Abtötungszeiten 10 Minuten, d.h., daß nach 6-minütiger Einwirkung des Wasserdampfes (123,5°C) die ATTEST-Indikatoren und STERIKON-Ampullen noch in allen Proben Wachstum zeigen, während nach dieser Zeit bei den anderen Indikatoren schon ein Teil der Proben steril ist. Die Abtötungszeit für SPORDI-Streifen beträgt nur 3,5 Minuten, wogegen die Sporenerde zwar nicht die hohe Resistenz von ATTEST-Indikatoren und STERIKON-Ampullen aufweist, aber mit einer Abtötungszeit von 7 Minuten etwa gleich liegt mit KILIT-Ampullen, KILIT- und OXOID-Streifen.

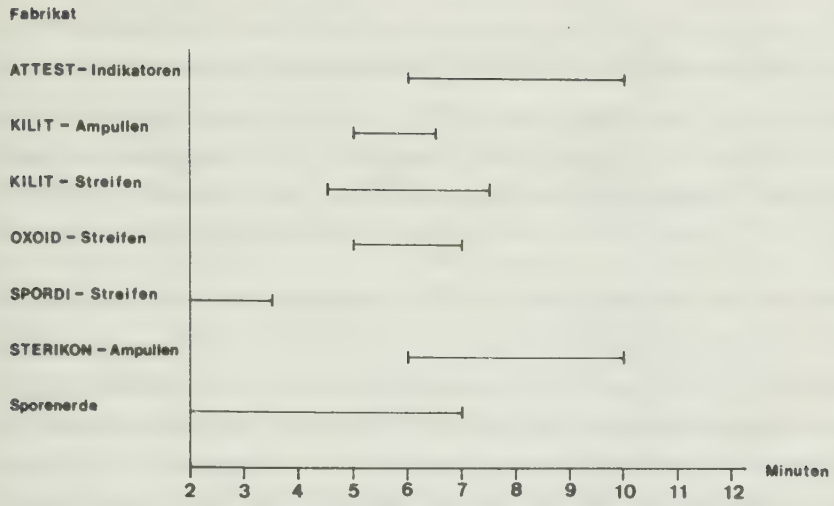

Abb.9: Übergangsbereiche zwischen vollständigem Überleben aller 9 Proben und Sterilität nach Autoklavieren bei 123,5°C

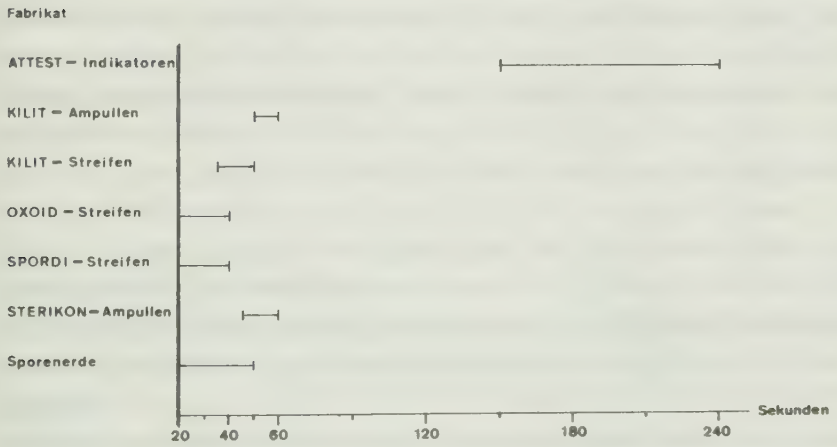

Abb.10: Übergangsbereiche zwischen vollständigem Wachstum aller 9 Proben und Sterilität nach Autoklavieren bei 134°C

Tabelle 6: Zusammenstellung der Abtötungs- und Überlebenszeiten nach Autoklavieren und Heißlufteinwirkung

Fabrikat	Temperaturbereiche (Autoklavieren) 123,5°C		134°C		Temperaturbereiche (trockene Hitze) 120° - 125°C		133° - 138°C	
	Überlebens-zeit	Abtötungs-zeit	Überlebens-zeit	Abtötungs-zeit	Überlebens-zeit	Abtötungs-zeit	Überlebens-zeit	Abtötungs-zeit
ATTEST-Indikatoren	6'	10'	150"	240"	20'	60'	12,5'	20'
ILIT-Ampullen	5'	6,5'	50"	60"	15'	30'	5'	15'
ILIT-Streifen	4,5'	7,5'	35"	50"	30'	90'	10'	17,5'
XOID-Streifen	5'	7'	20"	40"	30'	60'	12,5'	20'
PORDI-Streifen	2'	3,5'	20"	40"	20'	60'	10'	20'
TERIKON-Ampullen	6'	10'	45"	60"	15'	30'	5'	15'

Aus Abbildung 10 und Tabelle 6 geht die hohe Resistenz von ATTEST-Indikatoren im Vergleich zu den anderen getesteten Präparaten bei der Autoklavierungstemperatur von 134°C hervor.

Die Abtötungszeit beträgt 240 Sekunden und ist um das Dreifache höher als die der beiden Ampullen-Präparationen KILIT und STERIKON. Die Resistenzen der Sporenerde und von KILIT-Streifen sind etwa gleich, die Abtötungszeiten betragen 50 Sekunden. Die Sporen von OXOID- und SPORDI-Streifen sind schon nach 40 Sekunden abgetötet.

Im einzelnen sind bei den verschiedenen Indikatoren folgende Besonderheiten festzustellen:

ATTEST-Indikator

Wir ermittelten in unseren Versuchen im Gegensatz zu BÜHLMANN et al. (12, 44) eine ausreichende Resistenz dieses Indikators zur Überprüfung des Sterilisationseffektes von Autoklaven; die von uns festgestellten Abtötungszeiten liegen höher als die der verwendeten Sporenerde (siehe Tabelle 2 und 3). Ähnliche Ergebnisse erzielten andere Autoren (1, 23, 35, 55). Die hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber feuchter Hitze liegt, wie wir in unseren Versuchen (siehe Versuch unter 4.0) zeigen konnten, eindeutig in der Verpackungsart begründet. Bereits nach 3-minütiger Autoklavierung bei 123,5°C ist die Keimzahl der frei exponierten Sporenstreifen auf unter 1% der Ausgangskeimzahl gesunken (siehe Abbildung 5), wogegen die in der Plastikhülle verpackten Sporenstreifen erst nach 4 Minuten auf eine Keimzahl reduziert sind, die noch immer mehr als 10% der Ausgangskeimzahl beträgt. Die Vermutung liegt nahe, daß durch den die Hülse verschließenden Filterdeckel der Dampfeinlaß und der Luftausstrom verzögert werden, so daß der Dampf erst nach einer gewissen Anlaufzeit die Sporen erreichen kann. Die Abtötungszeiten in trockener Heißluft liegen weit über den gebräuchlichen Sterilisationszeiten im Autoklaven, so daß beim Vorliegen von Luftinseln ein ungenügender Sterilisationseffekt durch das Auswachsen der überlebenden Keime angezeigt wird. Bei unseren Versuchen waren nach 24 Stunden bereits 97,5% der positiven (bewachsenen) Proben eindeutig ablesbar; nur bei 2,5% erfolgte der Farbumschlag zwischen 24 und 48 Stunden. Eine einheitliche Bebrütungsdauer von 24 Stunden wäre daher vertretbar.

Die Ausgangskeimzahlen der verschiedenen Chargen waren unterschiedlich hoch (Tabelle 1), was durch eine bessere Standardisierung und eine genaue Deklaration der Keimzahlen durch den Hersteller zu ändern wäre. Während der kurzen Lagerungszeiten bei unseren Versuchen konnten wir keine Änderung der Thermoresistenz beobachten. In weiteren Versuchen wäre

zu prüfen, ob die vom Hersteller angegebene Lagerungszeit bzw. das Verfalldatum zu bestätigen sind.

KILIT - Ampullen

Die von uns festgestellten Abtötungszeiten im Autoklaven enthalten keinen ausreichenden Sicherheitsfaktor, sie sind aber höher als die von BÜHLMANN et al. (12, 44) ermittelten Werte. Die Dampf-Resistenz liegt auch bei diesem Indikator etwas über der der Sporenerde Durch die geschlossene Ampullenform ist dieser Bioindikator nur in der pharmazeutischen Industrie (Ampullensterilisation) anwendbar, und selbst dort wegen der kurzen Abtötungszeiten nur bedingt geeignet. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch andere Untersucher (25, 26). Eine Lagerung von 2 Monaten bei Zimmertemperatur läßt eine Tendenz zur Abnahme der Keimzahl erkennen (Tabelle 1). Eine Änderung der Thermoresistenz ließ sich allerdings in dieser Zeit nicht feststellen.

KILIT - Streifen

Die Abtötungszeiten dieses Indikators beinhalten ebenfalls keinen Sicherheitsfaktor, liegen aber höher als bei den Versuchen BÜHLMANNs (12, 44). Die Resistenz gegenüber feuchter Hitze ist auch hier etwas größer als bei der Sporenerde. Durch die Verpackung in einem Papierumschlag ist eine geringe Steigerung der Thermoresistenz dieses Indikators bedingt (Abbildung 6). Die Einwirkung von Wasserdampf wird durch KILIT-Streifen angezeigt, wie aus den weit längeren Abtötungszeiten in Heißluft hervorgeht (Tabelle 4, 5 und 6). Dieser Indikator ist aus den oben angeführten Gründen für die Sterilisationskontrolle im Krankenhaus bedingt geeignet.

OXOID - Streifen

Die Resistenz dieses Bioindikators gegen heißen Dampf lag bei unseren Versuchen geringfügig über der der Sporenerde. Ein Sicherheitsfaktor ist jedoch nicht berücksichtigt. Auffällig war der Rückgang der nachweisbaren Keime bei einer Charge um $5 \cdot 10^2$ nach einer Lagerung von 2 Monaten bei Zimmertemperatur (Tabelle 1). Wegen des notwendigen sterilen Arbeitens und der zusätzlich benötigten Nährmedien ist dieser Indikator für die Selbstkontrolle des Sterilisationseffektes durch das Krankenhauspersonal nicht geeignet.

SPORDI - Streifen

Die Thermoresistenz gegenüber feuchter Hitze ist nach unseren Versuchen zu gering (Tabelle 2 und 3). Die Ausgangskeimzahlen liegen zwar hoch (Tabelle 1), aber der Abfall der Abtötungskurve ist zu steil (Abbildung 1 und 2). Wurde der Sporenstreifen frei, also nicht im Papierumschlag verpackt, im Autoklaven exponiert, so überlebten die Keime längere Zeit (Abbildung 8). Dieses nicht zu erwartende Ergebnis, das von uns mehrmals reproduziert wurde, hat vermutlich seine Ursache in einer gewissen Hitzeschockwirkung der sofort und direkt auf die Sporen einwirkenden Feuchtigkeit.
Die Resistenz der Bac. subtilis-Sporen gegenüber Heißluft ist wesentlich höher als die der Bac. stearothermophilus-Sporen (siehe Abbildungen 3, 4), was auch aufgrund der hohen Resistenz gegen trockene Hitze zu erwarten war (siehe auch bei SPICHER, 49).

STERIKON - Ampullen

Die Abtötungszeit ist im Temperaturbereich von 123,5°C etwa der von ATTEST-Indikatoren entsprechend ausreichend lang. Aus der Art des geschlossenen Systems (Nährmedium und Sporen in Ampullen) ergibt sich eine einfache und sichere Anwendung. Allerdings ist auch dieser Indikator aus den oben ausführlich dargestellten Gründen nur für den Einsatz in der pharmazeutischen Industrie geeignet. Auch von anderen Untersuchern (19, 23, 26) wurden STERIKON-Ampullen für die Kontrollen der Ampullensterilisation bei 121°C empfohlen.

In Tabelle 7 ist eine zusammenfassende Übersicht über die Eigenschaften der Bioindikatoren gegeben.

Tabelle 7: Vor- und Nachteile sowie Beurteilung der verschiedenen Bioindikatoren

Fabrikat	Vor- und Nachteile	Beurteilung
ATTEST-Indikatoren	Lange Abtötungszeiten einschließlich Sicherheitsfaktor in beiden Temperaturbereichen, leicht und sicher ablesbar nach 24 bis 48 Stunden, geschlossenes System, daher keine zusätzlichen Nährböden und kein steriles Arbeiten erforderlich.	Geeignet zur Selbstkontrolle im Krankenhaus und in der Industrie.
KILIT-Ampullen	Abtötungszeiten in beiden Temperaturbereichen ohne Sicherheitsfaktor und in trockener Hitze zu kurz, kein Nachweis von Luftinseln, leicht und sicher ablesbar nach 24 bis 48 Stunden, geschlossenes System, daher keine zusätzlichen Nährböden und kein steriles Arbeiten erforderlich.	Nur bedingt geeignet, z.B. in der pharmazeutischen Industrie (Ampullensterilisation).
KILIT-Streifen	Abtötungszeiten in beiden Temperaturbereichen ohne Sicherheitsfaktor, leicht und sicher ablesbar nach 24 bis 48 Stunden, keine speziellen Nährböden erforderlich, allerdings steriles Aqua destillata und große Sorgfalt beim Anlegen der Subkultur notwendig.	Bedingt für die Selbstkontrolle im Krankenhaus geeignet.
OXOID-Streifen	Abtötungszeit ohne Sicherheitsfaktor im Temperaturbereich von 123,5°C, ungeeignet kurze Abtötungszeit bei 134°C, sicher ablesbar erst nach 4 Tagen, zusätzliches Nährmedium und steriles Arbeiten zum Anlegen der Subkultur erforderlich.	Nur bedingt für die Selbstkontrolle im Krankenhaus geeignet, Mitarbeit eines mikrobiologischen Laboratoriums erforderlich.

Forts. Tabelle 7:

Fabrikat	Vor- und Nachteile	Beurteilung
SPORDI-Streifen	Ungeeignet kurze Abtötungszeiten in beiden Temperaturbereichen, sicher ablesbar erst nach 7 Tagen, zusätzliches Nährmedium und steriles Arbeiten zum Anlegen der Subkultur erforderlich.	Ungeeignet für die Autoklavierungskontrolle, da zu kurze Abtötungszeiten (3,5 Minuten bei 123,5°C).
STERIKON-Ampullen	Ausreichend lange Abtötungszeit einschließlich eines Sicherheitsfaktors im Temperaturbereich von 123,5°C, ohne Sicherheitsfaktor im Bereich von 134°C, leicht und sicher ablesbar nach 24 bis 48 Stunden, geschlossenes System, daher keine zusätzliche Nährmedien und kein steriles Arbeiten zum Anlegen der Subkultur erforderlich, Abtötungszeiten in trockener Hitze zu kurz, kein Nachweis von Luftinseln.	Geeignet zur Sterilisationskontrolle in der pharmazeutischen Industrie (Ampullensterilisation).

Durch die Einfachheit der Handhabung und die leichtere Standardisierbarkeit empfiehlt sich grundsätzlich die Verwendung von biologischen Präparationen anstelle von Sporenerde für die regelmäßige Autoklavenüberprüfung. 1970 wurden die Bioindikatoren als beste Nachweismethode für eine Sterilisation bereits in die UNITED STATES PHARMACOPEIA XVIII (41), die PHARMACOPEA NORDICA (40) und die NATIONAL FORMULARY (39) aufgenommen.
Ein Ersatz der Sporenerde durch Bioindikatoren setzt jedoch voraus, daß genaue Präparationsvorschriften angegeben werden. Weiterhin ist zu fordern, daß von allen Herstellern die genauen Keimzahlen, die Thermoresistenz, die Lagerungsbedingungen und ein Verfalldatum angegeben werden. Auch sollten diese Werte mit standardisierten Methoden nachprüfbar sein. In früheren Untersuchungen hatten sich nämlich große Differenzen in den Keimzahlen und Thermoresistenzen zwischen Herstellerangaben und Versuchsergebnissen gezeigt (12, 34, 35, 44). Erst wenn diese Voraussetzungen zufriedenstellend gelöst sind, können auch die vom Fachmann durchzuführenden Kontrollen mit Sporenerde durch geeignete standardisierte Bioindikatoren ersetzt werden.

VI. EMPFEHLUNG FÜR DIE PRAKTISCHE ANWENDUNG

Bei der regelmäßigen Selbstkontrolle im Krankenhaus muß einerseits der Beweis für die Sterilität des Beschickungsgutes sicher geführt werden, andererseits ist eine möglichst sofortige Ablesbarkeit des Resultats wünschenswert. Bei biologischen Indikatoren ist mindestens eine Bebrütungsdauer von 24 Stunden erforderlich. Der alleinige Einsatz von biologischen Präparationen ist daher für diesen Zweck nicht optimal. Es sind zusätzliche chemische Indikatoren zu verwenden. Beurteilungen über deren Eignung finden sich zum Beispiel bei STRUPPE (50, 51, 52) sowie WERNER und VUTUC (55).
Ungeeignet für den Nachweis der Sterilität sind jedoch chemische Klebeindikatoren, die außen am Sterilisiergut befestigt sind. Sie dienen lediglich als Hinweis, daß die Ware im Autoklaven war.
Wir empfehlen die Autoklavenkontrolle mittels geeigneter Bioindikatoren bei jeder 30. Sterilisationscharge, spätestens alle 14 Tage durchzuführen. Dabei sollen die Indikatoren an verschiedenen ungünstigen Stellen im Autoklaven und im Sterilisiergut exponiert werden.

Die chemischen Indikatoren sind nach unserem Vorschlag in jedem Sterilisationsvorgang zu verwenden (5). Diese dürfen vorher nicht naß werden und müssen in Halterungen eingelegt sein, so daß sie ohne Kontamination des Sterilisiergutes mit Hilfe einer Kordel herausge-

zogen werden können. Auf diese Weise ist eine annähernde Kontrolle des Sterilisationseffektes vor der Verwendung möglich. Die Ergebnisse der Testung mit biologischen, aber auch mit chemischen Indikatoren sind in Protokollbüchern festzuhalten. Die etwa jährlichen Testungen mir Sporenerdepäckchen durch den Fachmann sind weiterhin durchzuführen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

In vergleichenden Untersuchungen wurden sechs handelsübliche Bioindikatoren und die herkömmliche Sporenerde auf ihre Eignung untersucht, den Sterilisationseffekt von Autoklaven anzuzeigen: ATTEST-Indikatoren, KILIT-Ampullen, KILIT-Streifen, OXOID-Streifen, SPORDI-Streifen, STERIKON-Ampullen.
Dazu ermittelten wir die Keimabtötungskurven im Temperaturbereich von 123,5° und 134°C. Durch Prüfung auf Sterilität nach unterschiedlichen Expositionszeiten erhielten wir Überlebens- und Abtötungszeiten. Weiterhin gaben Versuche in einem Heißluftsterilisator darüber Aufschluß, ob die Sporen der Bioindikatoren auch bei Abwesenheit von Wasserdampf abgetötet werden. Dann prüften wir, welchen Einfluß die normale Verpackung der Sporenstreifen auf die Abtötung der Sporen hat. Dazu verglichen wir die Abtötungskurven der verpackten mit den unverpackten, also frei exponierten Sporenstreifen. Zwei Fabrikate wiesen bei 123,5°C eine etwa gleich hohe und ausreichende Resistenz auf. Sie stellen zudem geschlossene Systeme dar, die einfach und sicher in ihrer Handhabung sind. Die ATTEST-Indikatoren zeigen zusätzlich die Anwesenheit von Wasserdampf an; dieser Bioindikator ist nach unseren Ergebnissen für die Selbstkontrolle des Sterilisationseffektes von Autoklaven durch das Krankenhauspersonal geeignet. Für die Kontrolle der Ampullensterilisation bei 121°C sind die STERIKON-Ampullen zu empfehlen.

Es wird auf die Schwierigkeiten der Standardisierung und der Konstanthaltung der Thermoresistenz während der Lagerung hingewiesen. Die herkömmlichen Sporenerdetestungen können erst nach zufriedenstellender Lösung dieser Probleme durch Bioindikatoren ersetzt werden. Für die Selbstkontrolle im Krankenhaus wird empfohlen, bei jedem Sterilisationsgang geeignete Farb-Indikatoren zu verwenden und bei jedem 30. Programm, spätestens alle 14 Tage, mit geeigneten biologischen Indikatoren Kontrollen durchzuführen.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, W.: Biologisches Testmaterial mit B. stearothermophilus für Dampfsterilisatoren.
Mitt. Österr.Sanit.-Verw. 72 (1971) 185

2. ARTANDI, C.: Panel Discussion: Proposed changes in the USP-microbiological aspects. II. Biological indicators.
Bull.Parent.Drug Ass. 23 (1969) 254

3. BIGELOW, W.D., J.R. ESTY: The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms.
J.Infect.Dis. 27 (1920) 602

4. BORNEFF, J.: Hygiene.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1971

5. BORNEFF, J.: Aktuelle Fragen zur medizinischen Sterilisation.
Mitt. Österr.Sanit.-Verw. 72 (1971) 154

6. BORNEFF, J.: Persönliche Mitteilung

7. BÖSENBERG, H.: Erfahrungen bei der Überprüfung von Sterilisationsgeräten in Krankenhäusern.
Dtsch.med.Wschr. 91 (1966) 1600

8. BOWIE, J.H., J.C.KELSEY, G.R.THOMPSON: The Bowie and Dick Autoclave Tape Test.
Lancet I (1963) 586

9. BREWER, J.H., C.B.McLAUGHLIN: A device for determining time and temperature of sterilization in the autoclave or hot-air oven.
Science 120 (1954) 501

10. BREWER, J.H., C.B. McLAUGHLIN: Dehydrated sterilizer controls containing bacterial spores and culture media.
J.Pharm.Sci. 50 (1961) 171

11. BRIGGS, A.: The resistance of spores of the genus Bacillus to phenol, heat and radiation.
J.Appl.Bact. 29 (1966) 490

12. BÜHLMANN, X., M. GAY, J. SCHILLER: Test objects containing Bacillus stearothermophilus spores for the monitoring of antimicrobial treatment in steam autoclaves. Results obtained with commercial preparations and with the authors' own test obejcts.
Pharm.Acta Helvetiae 48 (1973) 223

13. COOK, A.M., M.R.W. BROWN: The relation between heat activation and colony formation for the spores of Bacillus stearothermophilus.
J.Pharm.Pharmacol. 16 (1964) 725

14. COOK, A.M., M.R.W. BROWN: Relationship between heat activation and percentage colony formation for Bacillus stearothermophilus spores: effects of storage and pH of the recovery medium.
J.Appl.Bact. 28 (1965) 361

15. COOK, A.M., R.J. GILBERT: The effect of yeast cells in the heating medium on the heat resistance of Bacillus stearothermophilus spores.
J.Pharm.Pharmacol. 17 (1965) 20 S

16. COOK, A.M., R.J. GILBERT: Factors affecting the heat resistance of Bacillus stearothermophilus spores. I. The effect of recovery conditions on colony counts of unheated and heated spores.
J. Food Technol. 3 (1968) 285

17. COOK, A.M., R.J. GILBERT: The effect of sodium chloride on heat resistance and recovery of heated spores of Bacillus stearothermophilus.
J.Appl.Bact. 32 (1969) 96

18. COSTIN, I.D., J. GRIGO: Bioindikatoren zur Autoklavierungskontrolle. Einige theoretische Aspekte und praktische Erfahrungen bei der Entwicklung und Anwendung.
Zbl.Bakt.Hyg. I.Abt. Orig. A 227 (1974) 483

19. DETTER, A.: Vorläufige Mitteilungen über Erfahrungen mit Bioindikatoren.
Pharm.Ztg. 118 (1973) 1797

20. DEUTSCHES ARZNEIBUCH, 7. Auflage

21. DIN 58947 - Deutsche Normen-Sporenerde zur Prüfung von Heißluft- und Dampfsterilisatoren, 1969

22. DOBBERSTEIN, H.: Sterilisations- und Kulturversuche mit hochthermoresistenter Sporenerde. Ein Beitrag zum Sterilisierproblem.
Zbl.Bakt. I.Abt. Orig. 168 (1957) 606

23. ELSTE, U., H. DUDA: Bioindikatoren zur Autoklavierungskontrolle.
Pharm.Ztg. 118 (1973) 1185

24. GELINSKY, E., G. LOCKEMANN: Erfahrungen bei Sterilisationsversuchen mit sporenhaltiger Erde.
Zbl.Bakt.Hyg. I.Abt. Orig. 156 (1951) 305

25. HENNIG, W.A., H.S. STERN, R.J. LANZA, Y.S. MURTHY: Use of Bacillus stearothermophilus as a biological indicator.
Bull.Parent.Drug Ass. 27 (1973) 30

26. HOLSTEIN, N.: Untersuchungen zur Funktionsprüfung von Autoklaven mittels Bioindikatoren.
Dissertation Universität Mainz 1974

27. HORN, H.: Biologische Prüfung und Leistungskriterien der Sterilisation.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1968

28. HORN, H., H.K. SCHOLTZE: Bruttemperatur und Thermoresistenz - Untersuchungen an einem Stamm von Bac. stearothermophilus.
Wiss.Ztschr. d.Humboldt-Univ. Berlin, Math.-Nat. R. 18 (1969) 1071

29. KELSEY, J.C.: The testing of Sterilizers.
Lancet I (1958) 306

30. KELSEY, J.C.: The testing of sterilizers. 2. Thermophilic spore papers.
J.Clin.Path. 14 (1961) 313

31. KONRICH, F., L. STUTZ: Die bakterielle Keimtötung durch Wärme. 2.Aufl.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1963

32. KRZYWCKA, H., A. BIELICKA: Über einen neuen biologischen Indikator für die Dampfsterilisation.
Wiss.Ztschr. d. Humboldt-Univ. Berlin, Math.-Nat. R. 21 (1972) 518

33. KURZWEIL, H.: Wann wird Erde und erdhaltiges Material im gespannten heißen Wasserdampf steril?
Arch. Hyg. 138 (1954) 77

34. LASKARIS, T., A.L.CHANEY: Reliability of biologic autoclave sterilization indicators.
Amer.J.Clin.Path. 52 (1969) 495

35. LEBEK, G.: Die Prüfung von Dampfsterilisatoren.
Schweiz.med.Wschr. 102 (1972) 171

36. MACEK, T.J.: Biological indicators - A USP review.
Bull. Parent. Drug Ass. 26 (1972) 18

37. MACHMERTH, R., H. HORN, U. BRAUN: Thermoindikation durch Papiergilbung.
Wiss.Ztschr.d. Humboldt-Univ. Berlin, Math.-Nat.R. 18 (1969) 1045

38. MUSIELSKI, H.: Die Anwendung der Absterbekinetik von Bacillus-stearothermophilus-Sporenstrips zur Standardisierung der Prüfung und Prozeßführung der Dampfsterilisation.
Wiss.Ztschr.d.Humboldt-Univ. Berlin, Math.-Nat. R. 21 (1972) 599

39. National Formulary (1970) and First Supplement to NF XIII.
Amer.Pharm.Ass., Washington, D.C. USA

40. Pharmacopoea Nordica, Editio Danica, Addendum vom 31.12.1970

41. Pharmacopeia of the United States of America, 18th Revision, official from Sept.1, 1970 and 1st Supplement to the USP XVIII, released October 1, 1971

42. REYBROUCK, G., H. van de VOORDE: Evoluatie van sterilisatie-indicatoren voor gebruik in de autoclaaf.
Belg.Arch.Soc.Geneesk. 26 (1968) 647

43. REYBROUCK, G., H. van de VOORDE: Evoluatie van sterilisatie-indicatoren voor gebruik in de autoclaaf. Tweede medeling.
Belg.Arch.Soc.Geneesk. 29 (1971) 254

44. SCHILLER, I., M. GAY, X. BÜHLMANN: Resultate und Überlegungen zum Gebrauch von biologischen Indikatoren mit Bacillus stearothermophilus-

Sporen für die Kontrolle von Dampfautoklaven.
Mitt.Österr.Sanit.-Verw. 74 (1972) 286

45. SCHMIDT, B.: Notwendigkeit, Methodik und Bewertung der Überprüfung von Desinfektionsapparaten und Sterilisatoren.
Gesundh.-Wes. Desinf. 59 (1967) 57

46. SCHÜRMANN, W.: Die Methoden zur Prüfung und Begutachtung der Desinfektion.
In: Handbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden, Bd.III.
Hrsg. von E.Gotschlich.
Fischer Verlag Jena 1929

47. SOBERNHEIM, G., G. MÜNDEL: Grundsätzliches zur Technik der Sterilisationsprüfung.
I.Mitteilung. Native und Kultursporen der Erdbakterien.
Z.Hyg. 118 (1936) 328

48. SOBERNHEIM, G., G. MÜNDEL: Grundsätzliches zur Technik der Sterilisationsprüfung.
II.Mitteilung. Verhalten der Erdsporen bei der Dampfsterilisation. Ihre Eignung als Sporentest.
Z.Hyg. 121 (1939) 90

49. SPICHER, G.: Mikrobiologische Sterilisationsindikatoren. Allgemeines und Grundsätzliches.
Zbl.Bakt.Hyg. I.Abt. Orig. A 224 (1973) 527

50. STRUPPE, H.F.: Über Möglichkeiten und Grenzen der Funktionskontrolle von Autoklaven.
Arch.Hyg. 150 (1966) 294

51. STRUPPE, H.F.: Untersuchungen zur Eignung von Sterilisationsindikatoren für Schnellautoklaven.
Arch.Hyg. 152 (1968) 360

52. STRUPPE, H.F.: Moderne Sterilisationsindikatoren.
Münch.med.Wschr. 111 (1969) 1916

53. TRAYANOVA, K., S.V. AVRAMOVA, I.L.KARATSCHOLEV: Die Kontrolle von Sterilisationsgeräten mittels biologischer und chemischer Tests in der medizinischen Praxis.
Wiss.Ztschr.d.Humboldt-Univ. Berlin 18 (1969) 1037

54. WERNER, H.-P.: Aspects of Infection Control Program in Austrian Hospitals. Hlth.Lab.Sci. 11 (1974) 99

55. WERNER, H.-P., Ch. VUTUC: Die Eignung von chemischen und biologischen Indikatoren zur Überprüfung des Sterilisationseffektes von Autoklaven. Zbl. Bakt.Hyg., I.Abt. Orig. B 155 (1972) 561

56. WERNER, H.-P., G. WIEDERMANN, H.FLAMM: Angewandte Hygiene im Krankenhaus. Verlag Göschl Wien-München 1972

Herrn Professor Dr. J. Borneff möchte ich für die Überlassung des Themas sowie für seine wertvolle Beratung danken.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. H.-P. Werner für die vielen Anregungen und fortlaufenden Ratschläge bei der Durchführung der Versuche.

LEBENSLAUF

Am 23. Dezember 1951 wurde ich als Sohn des Bankkaufmanns Karl-Heinz Kindt und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Reinicke, in Rostock geboren.

Von 1958 bis 1962 besuchte ich in Wiesbaden die Volksschule und anschließend das Oranien-gymnasium, wo ich im Frühjahr 1970 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1970/71 nahm ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Humanmedizin auf. Nach dem Bestehen der Naturwissenschaftlichen Vorprüfung 1971 und der Ärztlichen Vorprüfung 1973 legte ich im Sommersemester 1976 das Staatsexamen ab. Die mündliche Prüfung der Dissertation bestand ich am 24.11.1976.

Nach Ableistung meiner Medizinalassistentenzeit erhielt ich am 16.8.1977 die Approbation als Arzt und bin seither als Assistenzarzt in der Chirurgischen Abteilung des Kreiskranken-hauses in Bad Schwalbach tätig.

Im April 1976 heiratete ich die Krankenschwester Renate Eckhardt, und im September 1976 wurde unsere Tochter Tanja geboren.